

Validierung eines Serum Amyloid A Schnellmessgerätes für Pferde

von Maria Elisabeth Retzer

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

**Validierung eines Serum Amyloid A Schnellmessgerätes für
Pferde**

von Maria Elisabeth Retzer
aus Straubing

München 2020

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl für Innere Medizin und Reproduktion des Pferdes

Arbeit angefertigt unter der Leitung von:

Univ.-Prof. Dr. Lutz S. Göhring

Mitbetreuung durch:

Dr. Tanja Witte

**Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München**

Dekan:	Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.
Berichterstatter:	Univ.-Prof. Dr. Lutz S. Göhring
Korreferent/en:	Prof. Dr. Sabine André

Tag der Promotion: 08. Februar 2020

Für meine Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG	1
II.	LITERATURÜBERSICHT	4
1.	Die Akute Phase Reaktion.....	4
1.1.	Aktivierung der Akuten Phase Reaktion	4
1.2.	Zytokine und Mediatoren der Akuten Phasen Reaktion.....	6
1.2.1.	Interleukin – 6	7
1.2.2.	Interleukin – 1	8
1.2.3.	Tumor – Nekrose – Faktor α	10
2.	Die Akuten Phase Proteine.....	11
2.1.	C – Reaktives Protein	16
2.2.	Transferrin.....	17
2.3.	Alpha 1 – saures Glykoprotein.....	18
2.4.	Alpha 2 Makroglobulin.....	19
2.5.	Ferritin	20
2.6.	Lipopolysaccharid – bindendes Protein.....	21
2.7.	Albumin	21
2.8.	Coeruloplasmin	22
2.9.	Haptoglobin.....	22
3.	Fibrinogen.....	25
4.	Serum Amyloid A	27
4.1.	Eigenschaften von SAA.....	28
4.2.	Messmethoden für SAA	30
4.3.	Aufgaben von SAA	31
4.4.	Produktion von SAA	34
4.5.	Klinische Anwendung von SAA.....	35
4.5.1.	SAA bei Infektionskrankheiten.....	38
4.5.2.	SAA in der Fohlenmedizin	40
4.5.3.	SAA in der Orthopädie	43
4.5.4.	SAA in der Kolikmedizin	45
4.5.5.	SAA in der Reproduktionsmedizin	47
4.5.6.	SAA im Training.....	48

4.5.7.	SAA und Neoplasien	49
5.	Hintergrund und Fragestellung der wissenschaftlichen Arbeit.....	51
6.	Hypothesen	51
III.	MATERIAL UND METHODEN.....	52
1.	Tiere	52
2.	Chirurgische Methode der Kastration.....	53
3.	Klinische Untersuchung der Pferde.....	54
4.	Probengewinnung.....	55
5.	Probenaufbereitung.....	55
6.	Laboruntersuchung	56
6.1.	EquiChek™ – SAA	56
6.2.	Der Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA).....	60
6.3.	Messung der Gesamtleukozytenzahl	61
6.4.	Fibrinogenmessung.....	62
7.	Statistische Auswertung und Darstellung der Ergebnisse	63
IV.	ERGEBNISSE	65
1.	Klinische Untersuchung	65
1.1.	Herzfrequenz und Atemfrequenz	65
1.2.	Innere Körpertemperatur.....	69
1.3.	Palpationsbefunde der Lymphonodi mandibulares	71
1.4.	Auskultation der Lunge	72
2.	Laboruntersuchungen	72
2.1.	EquiChek™ – SAA	72
2.2.	Der Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA).....	74
2.3.	Gesamtleukozyten (<i>White Blood Cell Count, WBC</i>).....	76
2.4.	Fibrinogen.....	78
2.5.	Vergleich beider SAA – Messmethoden	79
2.6.	Auffälligkeiten	81
V.	DISKUSSION	85
1.	Diskussion der Methode	85

1.1.	Auswahl der Operationsmethode und der Testzeitpunkte	85
1.2.	Lagerung der Serumproben.....	88
2.	Diskussion der Ergebnisse.....	89
2.1.	Klinische Parameter.....	89
2.2.	Laboruntersuchungen	92
2.2.1.	SAA – Konzentrationen.....	92
2.2.2.	Gesamtleukozyten – und Fibrinogenkonzentration.....	96
3.	Beantwortung der Haupt – und Detailfragen aus I.....	99
3.1.	Hauptfragen.....	99
3.1.1.	Besteht eine statistisch signifikante Korrelation zwischen den Ergebnissen der beiden Messmethoden, dem EquiChek™ – SAA und dem ELISA? ..	99
3.1.2.	Ist das Ergebnis des EquiChek™ – SAA als Vorhersagewert (Prädiktor) für den Laborwert des ELISA geeignet?	101
3.2.	Nebenfragen	101
3.2.1.	Ist der EquiChek™ – SAA in der Pferdepraxis praktikabel und sinnvoll einsetzbar?.....	101
3.2.1.1.	Ist der Messbereich des EquiChek™ – SAA sinnvoll für die Pferdepraxis?	102
4.	Schlussfolgerung.....	105
VI.	ZUSAMMENFASSUNG	107
VII.	SUMMARY	110
VIII.	LITERATURVERZEICHNIS	113
IX.	ANHANG.....	137
1.	Tabellen – und Abbildungsverzeichnis.....	137
1.1.	Tabellenverzeichnis	137
1.2.	Abbildungsverzeichnis	138
2.	Probandenliste	141
X.	DANKSAGUNG	144

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

α2MG	α2 – Makroglobulin
Abb.	Abbildung
AGP	α1 – saures Glykoprotein
AG	Antigen
AK	Antikörper
APP	Akute Phase Protein
APR	Akute Phase Reaktion
A – SAA	Akutes SAA
BAL	Bronchoalveoläre Lavage
bzw.	beziehungsweise
CFU	<i>Colony forming units</i> , koloniebildende Einheiten
Cp	Coeruloplasmin
CRP	C – Reaktives Protein
C – SAA	Konsekutives SAA
Da	Dalton
dl	Deziliter
E. coli	<i>Escherichia coli</i>
ELISA	<i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i> (Enzym – gekoppelter Immunadsorptionstest)
EDTA	Ethylen – Diamin – Tetra – Acetat
EHV	Equines Herpes Virus
EIV	Equines Influenza Virus
et al.	<i>et alii</i> , Lateinisch: und andere
etc.	<i>et cetera</i> , Lateinisch: und die übrigen (Dinge)
Fb	Fibrinogen
FPR2	<i>formyl peptide receptor 2</i>
g	Gramm
Hb	Hämoglobin
HDL₃	<i>High Density Lipoproteinfraktion 3</i>
Hp	Haptoglobin
hr	Stunden
HRP	Meerettichperoxidase
HWZ	Halbwertszeit
IAD	<i>Inflammatory airways disease</i> , entzündliche Atemwegs-Erkrankung
IL	Interleukin
k – Da	Kilo – Dalton
KG	Körpergewicht
km	Kilometer
l	Liter
LFT	<i>Lateral Flow Test</i>
LBP	Lipopolysaccharid – bindendes Protein
Lnn.	<i>Lymphonodi</i> , Lateinisch: Lymphknoten
LPS	Lipopolysaccharid
m	Meter

MAK – G	Monoklonale Antikörper mit Gold
mg	Milligramm
ml	Milliliter
mRNA	<i>messenger</i> Ribonukleinsäure
M – SAA3	Milch – assoziiertes SAA3
n	Anzahl der Probanden
nm	Nanometer
NF – κB	<i>nuclear factor – κB ('kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells)</i>
obB.	Ohne besonderen Befund
OmpA	<i>outer membrane protein A</i>
p	p – Wert, Signifikanzwert
Per os	Lateinisch: über das Maul verabreicht
pI	Isoelektrischer Punkt
post	Lateinisch: nach
post infectionem	Lateinisch: nach der Infektion
post partum	Lateinisch: nach der Geburt
postoperativ	Lateinisch: nach der Operation
PBS – Tween	Phosphatgepufferte physiologische Kochsalzlösung
r	Korrelationskoeffizient
R²	Bestimmtheitsmaß
RAO	<i>Recurrent airways obstruction</i> , wiederkehrende Verlegung der Atemwege
Rh. equi	<i>Rhodococcus equi</i>
RNA	Ribonukleinsäure
SAA	Serum Amyloid A
SD	Standardabweichung
SIRS	<i>Systemic inflammatory response syndrome</i> , Systemische entzündliche Reaktion
sog.	sogenannten
spp.	<i>species pluralis</i> , Lateinisch: mehrere Arten der Gattung
t₁	Zeitpunkt vor der Kastration
t₂	Zeitpunkt nach der Kastration
Tab.	Tabelle
TGF – β	<i>Transforming Growth Faktor β</i>
TLR	<i>Toll – like</i> Rezeptoren
TMB	Tatramethylbenzidin
TNF – α	Tumor Nekrose Faktor α
WB	Warmblut
WBC	<i>White blood cells</i> , Gesamtleukozyten
β	Regressionskoeffizient
μg	Mikrogramm
μl	Mikroliter
z.B.	Zum Beispiel

I. EINLEITUNG

Die Entzündung spielt im Alltag der Medizin eine herausragende Rolle und ist unverzichtbar für alle Lebewesen (MACKAY, 2000).

Unter einer Entzündung versteht man die Reaktion des lebenden Organismus auf einen örtlich angreifenden, vornehmlich von außen einwirkendem, schädigendem Reiz (WIESNER und RIBBECK, 2000). Die akute Entzündung ist durch eine lokale Reaktion des Gewebes auf diesen Reiz gekennzeichnet und äußert sich meist durch die klassischen 5 Entzündungsmerkmale, worunter Schwellung, Rötung, Wärme, Schmerzhaftigkeit und Funktionsausfall fallen (KUSHNER, 1982; HEINRICH et al., 1990; MACKAY, 2000). Kann diese Reaktion nicht lokal und direkt von Entzündungszellen bekämpft werden, folgt die Einbeziehung des gesamten Organismus. Diese systemische Entzündungsreaktion beginnt mit der Aktivierung der sogenannten (sog.) Akute Phase Reaktion (APR) (KUSHNER, 1982). Die im Verlauf der APR gebildeten Proteine, die Akuten Phase Proteine (APP), regulieren weitere Entzündungszellen und – Mechanismen, beseitigen den zugrundeliegenden Reiz und sind an der Reparatur des Gewebes beteiligt. Die so gestörte Homöostase wird mittels dieser komplexen Reaktion wiederhergestellt (HEINRICH et al., 1990; JACOBSEN und ANDERSEN, 2007; CRISMAN et al., 2008; KHAN und KHAN, 2010).

Sowohl in der Humanmedizin als auch in der Veterinärmedizin ist das Erkennen und Behandeln einer Entzündung von übergeordneter Bedeutung. Um diese Reaktionen des Körpers jedoch zunächst diagnostizieren und einordnen zu können, werden Parameter benötigt, die sich meist nicht nur auf die 5 oben genannten klinischen Entzündungsmerkmale beschränken lassen. Bei der Untersuchung von Menschen und Tieren mit einer entzündlichen Erkrankung ist die Analyse der Blutparameter daher von großer Bedeutung.

In der Humanmedizin sind neben den Gesamtleukozyten die APP, vor allem das C – Reaktive Protein (CRP), schon lange in der Diagnostik etabliert, um Entzündungen zu erkennen und die Therapie dieser zu überwachen.

In der Pferdemedizin ist neben den Gesamtleukozyten das Fibrinogen (Fb) das meist bestimmte APP, welches routinemäßig genutzt wird. Das eher langsam reagierende Fb kann zwar einfach und schnell gemessen werden, zeigt aber bereits

relativ hohe Serumkonzentrationen bei gesunden Pferden, einen geringen Anstieg nach einem Entzündungsstimulus sowie einen protrahierten Abfall bei der Reduzierung der Entzündungsreaktion. Außerdem ist das Fb in die Gerinnungskaskade mit eingebunden, was zu verfälschten Interpretationen führen kann (JACOBSEN und ANDERSEN, 2007).

Dagegen scheint das schnell reagierende Serum Amyloid A (SAA) ein deutlich sensitiverer Indikator für Entzündungen oder Gewebeschäden beim Pferd zu sein (CHAVATTE et al., 1992; NUNOKAWA et al., 1993; HULTEN und DEMMERS, 2002; JACOBSEN et al., 2005). Das Einschicken der Blutprobe in ein Labor und die damit verbundene Zeitverzögerung für den Erhalt des Ergebnisses neutralisiert dagegen einige dieser positiven Eigenschaften von SAA. Das Anschaffen eines eigenen Messgerätes für Tierkliniken oder – Praxen ist wiederum mit einem sehr hohen Kostenfaktor verbunden. Ein Schnellmessgerät für das SAA, welches vor Ort, im Stall oder in der Klinik, verwendet werden kann und dazu preiswert ist, wäre dagegen ein wichtiges diagnostisches Hilfsmittel, um Entzündungen schnell erkennen, einzuordnen und Therapien überwachen zu können. Bei elektiven Eingriffen (wie Kastrationen) könnten die Pferde vor den Operationen auf mögliche subklinische Infektionen oder degenerative Entzündungsreaktionen kontrolliert werden und gegebenenfalls von der Operation zurückgenommen werden. Auch könnte ein Schnellmessgerät vor dem Training, vor Wettkämpfen oder nach langen Transporten genutzt werden, um die Pferde auf ihren Allgemeinzustand hin zu überprüfen und so subklinische, entzündliche Vorgänge möglichst früh zu erkennen.

In dieser Arbeit wurde ein SAA – Schnellmessgerät (EquiChekTM – SAA) bei Pferden, welche einer Routine – Kastration unterzogen wurden, getestet. Zur Validierung des EquiChekTM – SAA – Gerätes wurden die Ergebnisse mit einer etablierten und kommerziellen Labormethode (Enzym – gekoppelter Immunadsorptionstest, ELISA) verglichen.

Konkret wurden die SAA – Werte vor der Kastration der Pferde sowie circa 24 hr nach der Operation gemessen, um deutliche Unterschiede in der Serumkonzentration von SAA darstellen zu können.

Hauptfragen:

1. Besteht eine statistisch signifikante Korrelation zwischen den Ergebnissen der beiden Messmethoden, EquiChekTM – SAA und ELISA?
2. Ist das Ergebnis des EquiChekTM – SAA als Vorhersagewert (Prädiktor) für den Laborwert des ELISA geeignet?

Nebenfragen:

1. Ist der EquiChekTM – SAA in der Pferdepraxis praktikabel und sinnvoll einsetzbar?
2. Ist der Messbereich des EquiChekTM – SAA sinnvoll für die Pferdepraxis?

II.LITERATURÜBERSICHT

1. Die Akute Phase Reaktion

Die Akute Phase Reaktion (APR) ist der Kern des angeborenen Immunsystems und wird bei allen Tierarten beobachtet (CRAY et al., 2009). Sie stellt eine sehr wichtige, systemische Reaktion des Organismus dar, welche auf lokale und systemische Störungen der Homöostase, verursacht durch Infektionen, Gewebeschäden, Traumen, chirurgische Eingriffe, Tumore oder Immunkrankheiten, reagiert (GORDON und KOY, 1985; GRUYS et al., 1999; GRUYS et al., 2005).

Im Verlauf einer APR verändert eine Anzahl von Proteinen, den APP, ihre Konzentration. Die APP erfüllen dabei vielfältige Aufgaben, wie die Beseitigung von Pathogenen, die Regulierung der Immunantwort und die Reduktion von oxidativen Schäden (CRAY, 2012). Dabei finden zahlreiche lokale und systemische Veränderungen statt, wobei verschiedene Organe (Leber, Knochenmark, Hypothalamus, Nebenniere) und Zellen (Monozyten, Leukozyten, Kupffersche Sternzellen) miteinbezogen werden (JACOBSEN und ANDERSEN, 2007).

Die APR hat als Ziel weitere Gewebsschäden zu verhindern, den infektiösen Organismus zu isolieren und zu zerstören sowie Reparaturprozesse zu aktivieren, welche nötig sind, um dem Organismus wieder zur normalen Funktion zu verhelfen (GRUYS et al., 2005; SATUE et al., 2013).

1.1. Aktivierung der Akuten Phase Reaktion

Der Ausgangspunkt der APR ist eine lokale Reaktion des Gewebes auf eine Entzündung oder Verletzung, verursacht durch eine Invasion von Mikroorganismen (virale, bakterielle oder parasitäre Infektionen) oder durch einen Gewebsschaden (Verletzungen, Traumen, Tumore, chirurgisch gesetzte Reize). Mit der Aggregation von Thrombozyten, der Bildung eines Blutgerinnsels, der Dilatation und gesteigerten Permeabilität der Blutgefäße kommt es zu einer Ansammlung und Aktivierung von Granulozyten und mononukleären Zellen an der geschädigten Stelle des Gewebes (HEINRICH et al., 1990).

Das Gewebe selbst wird aktiv, indem es proinflammatorische Zytokine entlässt und damit das Gefäßsystem und weitere Entzündungszellen aktiviert (GRUYS et al., 2005). Diese Entzündungszellen, wie Makrophagen und neutrophile Granulozyten, sammeln sich an der entzündeten Stelle an und produzieren eine Vielzahl von Mediatoren, einschließlich der proinflammatorischer Zytokine wie das Interleukin – 1 und – 6 (IL – 1, IL – 6) und den Tumor – Nekrose – Faktor alpha (TNF – α) (JENSEN und WHITEHEAD, 1998). Diese Zytokine veranlassen eine Reihe von Reaktionen. Sie induzieren die Expression von Selektinen (Zelladhäsionsmoleküle) auf den Endothelzellen vor Ort, wodurch die Rekrutierung von Entzündungszellen aus dem Blutstrom gefördert wird, damit diese an die Endothelzellen anhaften können. Die Zytokine aktivieren die rekrutierten Zellen und erhöhen so ihre antibakterielle Aktivität, indem sie zum Beispiel die Expression von Rezeptoren für das Komplementsystem erhöhen, den Zellmetabolismus und die Proteinexpression steigern (JENSEN und WHITEHEAD, 1998). Des Weiteren binden die freigesetzten Zytokine an Rezeptoren von verschiedenen Zielzellen im gesamten Organismus und aktivieren so weitere Systeme. Dazu gehören das Komplement –, Gerinnung –, Fibrinolyse –, Hormon – und Immunsystem sowie die Hypothalamus – Hypophysen – Nebennieren – Achse. Somit lösen die Zytokine über das Zentralnervensystem, das Lymphsystem und über die Blutbahn eine systemische Reaktion aus. Weiter bewirken die Zytokine eine Anzahl an klinischen Veränderungen wie Fieber, Schmerz oder Anorexie (ANDUS et al., 1989; HEINRICH et al., 1990; JENSEN und WHITEHEAD, 1998; MILLER et al., 2003; GRUYS et al., 2005; KHAN und KHAN, 2010). Im Blut können ein Abfall an Kalzium, Zink, Eisen, Vitamin A und α – Tocopherol sowie eine Änderung der Konzentration von mehreren APP im Serum gemessen werden (ANDUS et al., 1989; GABAY und KUSHNER, 1999; GRUYS et al., 2005).

Ein zentraler Punkt der systemischen APR ist die Synthese der APP in der Leber (hepatische APR) und deren Konzentrationsveränderung im Blut (JACOBSEN und ANDERSEN, 2007). Eine Auswahl von APP, welche in der Pferdemedizin genutzt werden, wird im Literaturteil beschrieben.

Bakterielle Infektionen führen auf Grund der starken Antwort der Zellen des mononukleären Phagozytensystems zu einer starken systemischen APR (ALSEMGEEST et al., 1994; GRUYS et al., 2005), während bei einer viralen Infektion die APR möglicherweise milder ausfällt (NAKAYAMA et al., 1993;

ALSEMGEEEST, 1994; HÖFNER et al., 1994; GRUYS et al., 2005).

1.2. Zytokine und Mediatoren der Akuten Phasen Reaktion

Für die Aktivierung der hepatischen APR und folglich der Produktion der APP sind bestimmte Zytokine und Mediatoren von großer Bedeutung. Diese Entzündungsmediatoren wirken während der APR vor allem auf die Leber als das Hauptorgan der APP – Synthese (BAUMANN und GAULDIE, 1994).

Zytokine sind Polypeptide und werden als Antwort auf Mikroben und Antigene (AG) von einer großen Anzahl an Zellen produziert, vor allem aber von Monozyten und Makrophagen (GABAY und KUSHNER, 1999; KHAN und KHAN, 2010). Zusätzlich sind aktivierte Fibroblasten und Endothelzellen in der Lage, diese zu produzieren (HEINRICH et al., 1990; MILLER et al., 2003).

Die Wirkung der Zytokine und Mediatoren erfolgt über die Bindung an ihre jeweiligen Rezeptoren auf den Zelloberflächen. Danach werden sie entweder in die Zelle aufgenommen oder vermitteln Signale in die Zelle, wodurch eine Reihe an intrazellulären Mechanismen in Gang gesetzt werden, wie die Aktivierung und/oder Neusynthese von Transkriptionsfaktoren, der *nuclear factor* – κ B (NF – κ B), die Veränderungen der Ribonukleinsäure (RNA) – Verarbeitung und deren Stabilität sowie die Veränderungen der Translationsarbeit und der Protein – Sekretion (JENSEN und WHITEHEAD, 1998).

Eine Schlüsselrolle bei der Aktivierung der APR spielen die Zytokine TNF – α , IL – 1 und IL – 6 (GRUYS et al., 2005). Aber auch der Leukämie – Inhibitions – Faktor, das Wachstumshormon *Transforming growth factor* – β (TGF – β), das Interferon γ , IL – 11, Ocostatin, der *Ciliary neutrophilic factor* und die Retinsäure fördern die APR, wohingegen das Insulin und die Okadainsäure hemmende Effekte auf die APR aufweisen (JENSEN und WHITEHEAD, 1998). Glukokortikoide haben sowohl eine fördernde (verstärken die Effekte von IL – 1 und TNF – α) als auch eine reduzierende (hemmen die Synthese von IL – 1 und TNF – α) Wirkung auf die APR (JENSEN und WHITEHEAD, 1998; CRISMAN et al., 2008), während das Insulin die Produktion einiger APP hemmt (CAMPOS et al., 1994; CRISMAN et al., 2008).

Die Kombinationen von Zytokinen auf verschiedene Zielzellen haben sowohl einen

stimulierenden als auch einen hemmenden Effekt. Zum Beispiel benötigt die Produktion von SAA die Zytokine IL – 6 und IL – 1 oder TNF – α , während das IL – 1 und der TNF – α die Induktion von Fb durch das IL – 6 verhindern (CRISMAN et al., 2008). QUINTON et al. (2009) konnten bestätigen, dass die hepatische APR beispielsweise bei einer Lungeninfektion für ihre Induktion das IL – 6 und zusätzlich den TNF – α oder das IL – 1 benötigt. Andere Studien besagen, dass allein das IL – 6, aber nicht der TNF – α für die APR – Induktion von großer Bedeutung ist (VERNOOY et al., 2005; GAMBLE et al., 2009; QUINTON et al., 2009).

Einige Autoren teilten die APP in 2 Gruppen ein. Die Typ – 1 – APP (wie SAA, CRP) werden durch das IL – 1 (und TNF – α) und die Typ – 2 – APP (wie Fb) durch das IL – 6 und IL – 6 ähnliche Zytokine induziert. Dabei kann die Synthese von Typ – 1 – APP auch synergistisch durch das IL – 6 induziert werden, während das IL – 1 bei den Typ – 2 – APP keine Wirkung erzielt. Das IL – 1 hat sogar einen hemmenden Effekt auf einige Typ – 2 – APP (BAUMANN und GAULDIE, 1994; CAMPOS et al., 1994; PETERSEN et al., 2004).

Wie aus diesem Absatz ersichtlich wird, spielen 3 Zytokine (IL – 6, IL – 1, TNF – α) eine große Rolle für die Induktion der APR, vor allem für die Synthese der APP in der Leber. Diese Hauptvermittler werden nun im Einzelnen genauer beschrieben.

1.2.1. Interleukin – 6

Das Zytokin Interleukin – 6 wird in der Literatur als der Schlüssel – Mediator und Regulator für die meisten APP bezeichnet (HEINRICH et al., 1990; GABAY und KUSHNER, 1999; GRUYS et al., 2005; EL – DEEB et al., 2018). Die beiden Zytokine IL – 1 und TNF – α sind dagegen nur für eine Untergruppe der APP regulatorisch verantwortlich. Zusätzlich verstärken diese beiden Monokine (Zytokine, welche von Monozyten und Makrophagen freigesetzt werden) den Effekt von IL – 6, indem sie Fibroblasten, Endothelzellen und Keratinozyten stimulieren, die wiederum den Hauptmediator IL – 6 synthetisieren (ANDUS et al., 1989; HEINRICH et al., 1990).

Sehr viele verschiedene Zellen können das IL – 6 synthetisieren. Die wichtigsten

Produzenten von IL – 6 während einer Entzündung sind Endothelzellen, Fibroblasten und Monozyten/Makrophagen (HEINRICH et al. 1990).

Das IL – 6 ist ein Phosphoglykoprotein mit 184 Aminosäuren und weist verschiedene Synonyme (*Hepatocyte stimulating Factor*, *B – Cell stimulating Factor – 2*, *Interferon β_2* , 26 kDa Protein, *Hybridoma Plasmacytoma Growth Factor*, *Myeloid Blood Cell Differentiation – inducing Protein*) auf, welche einen Hinweis auf den großen Wirkungsbereich im Organismus geben (ANDUS et al., 1989; HEINRICH et al., 1990).

Die pleiotropen Eigenschaften dieses Zytokins zeigen sich unter anderem in seiner Wirkung auf das humorale und zelluläre Immunsystem. Es trägt zu der Differenzierung von B – Zellen zu Antikörper (AK) – bildenden Plasmazellen bei und ist ein wichtiger Faktor, um T – Zellen zu aktivieren und differenzieren. In Zusammenarbeit mit dem IL – 2 aktiviert es auch zytotoxische T – Zellen. Des Weiteren erstreckt sich seine Wirkung auf das Komplement –, Gerinnung –, Fibrinolyse – und Kallikrein – Kinin – System. Als Ursache dafür ist die Wirkung auf die hepatische Proteinsynthese zu nennen. Die produzierten APP sind zum Teil Proteinase – Inhibitoren und die oben genannten Systeme werden durch Proteolyse reguliert (ANDUS et al., 1989). Zusammen mit dem IL – 1 hat das IL – 6 eine stark pyrogene Wirkung und löst so unter anderem das „*sickness behaviour*“ aus (CARTMELL et al., 2000; DANTZER, 2001). Dies beschreibt Verhaltensänderungen, welche ein Mensch oder Tier während einer Infektion entwickelt (DANTZER, 2001).

Die IL – 6 Rezeptoren befinden sich in den verschiedensten Organen, das Hauptziel dieses Zytokins ist aber die Leber (HEINRICH et al., 1990). Nach Injektion von markierten IL– 6 wurden diese Zytokine nach circa 20 Minuten zu etwa 80% in der Leber nachgewiesen, und dort ausschließlich auf der Oberfläche der Parenchym – Zellen gefunden (CASTELL et al., 1988; ANDUS et al., 1989). Es konnte ein cis – Element definiert werden, welches für die Induktion von APP – Gen – Transkriptionen durch das IL – 6 verantwortlich ist (HEINRICH et al., 1990).

1.2.2. Interleukin – 1

Als weiterer Aktivator der APR ist das Interleukin – 1 zu nennen. Die IL – 1–

Familie besteht aus dem IL – 1 α , IL – 1 β sowie IL – 1 – Rezeptorantagonisten (IL – 1ra) (DINARELLO, 1994; KATO et al., 1997). Dieses Zytokin weist ein breit gefächertes Wirkungsspektrum im Organismus auf und wurde daher unter zahlreichen Namen bekannt: Leukozyten – Pyrogen, endogener Leukozyten – Mediator, Lymphozyten – aktivierender Faktor, Hemopoietin – 1, Mononuklärer Zellfaktor, Proteolyse induzierender Faktor, Katabolin und Osteoklasen aktivierender Faktor (DINARELLO, 1994).

Verschiedenste Zelltypen produzieren das IL – 1: Monozyten, Makrophagen, neutrophile Granulozyten, dendritische Zellen, Langerhans Zellen, Astrozyten, Mikrogliazellen, Endothelzellen, Epithelzellen, Fibroblasten, Mesangialzellen, B – Lymphozyten und adulte T – Lymphozyten leukämischer Zelllinien (KITAGAWA und SAITO, 1988; WOLF et al., 1996; KHAN und KHAN, 2010). In Monozyten wird die Synthese von IL – 1 durch die Anheftung von Komponenten des Komplementsystems, die Blutgerinnung und durch Endotoxine aktiviert. Der Hauptstimulator für die IL – 1 – Synthese ist das letztgenannte Endotoxin (Lipopolysaccharid) (DARGEL, 1995; KHAN und KHAN, 2010). Da im Blut oder Knochenmark gesunder Organismen keine spontane IL – 1 – Genexpression stattfindet, weisen einige Zellen eine konstitutive Genexpression von IL – 1 auf. Zum Beispiel enthalten die Keratinozyten der Haut, die Epithelzellen der Kornea, die Granulosazellen der Ovarien und die Zellen des Hypothalamus *messenger RNA (mRNA)*, welche das IL – 1 in Abwesenheit einer Erkrankung kodieren (DINARELLO, 1994).

Die Stimulation von Endothelzellen, Osteoblasten, natürlichen Killerzellen, Fibroblasten, Synovialzellen, Hepatozyten und Myozyten gehört zu den Aufgaben von IL – 1 (KITAGAWA und SAITO, 1988; GANGUR et al., 2002). Weiterhin werden Fieber (über die Synthese von Prostaglandin E₂), Müdigkeit und Appetitlosigkeit als systemische Reaktion von IL – 1 hervorgerufen und tragen so zum „*sickness behaviour*“ bei (DARGEL, 1995; UHLAR und WHITEHEAD, 1999).

Das IL – 1 verursacht sowohl direkt als auch indirekt (unter anderem über das IL – 6) eine Induktion von APP in der Leber (BORNSTEIN, 1982; DINARELLO, 1994; QUINTON et al., 2009). Speziell die SAA – Produktion wird durch die Stimulation von IL – 1 aktiviert (SIPE et al., 1982).

Der IL – 1ra hemmt dagegen die IL – 1 vermittelte proinflammatorische Aktionen, wie die Induktion der hepatischen APP – Synthese, die Induktion von Fieber und die Stimulation von Chondrozyten und Synovialzellen, Prostaglandin E zu produzieren. Mit dieser entgegengesetzten Wirkung von IL – 1ra und IL – 1 zeigt sich ein homöostatischer Mechanismus des Organismus, um Entzündungsreaktionen zu kontrollieren (KATO et al., 1997).

1.2.3. Tumor – Nekrose – Faktor α

Als drittes Zytokin spielt der Tumor – Nekrose – Faktor – α (TNF – α) eine wichtige Rolle bei der Induktion der APR. Der TNF – α ist ein pleiotropes Zytokin und wird von zahlreichen Zellen, wie Makrophagen, Lymphozyten, natürlichen Killerzellen und lokalen Mastzellen sezerniert (THORN et al., 2004; KHAN und KHAN, 2010). Dieses Zytokin wird nicht intrazellulär gespeichert, sondern bei der Anregung der Zelle beispielsweise durch Endotoxine, Viren oder parasitische AG rasch gebildet. Nach der Stimulation erhöht sich die Sekretionsrate um das 10000fache und innerhalb von 2 hr erreicht die Konzentration von TNF – α seinen Maximalwert im Plasma (DARGEL, 1995). EL – DEEB et al. (2018) konnten in ihrer Publikation zeigen, dass sowohl der TNF – α als auch das IL – 6 sinnvolle Parameter für die Diagnose der kutanen Habronematose (Haut – Infektion mit Larven der Spezies *Habronema spp.*) bei Pferden sind und auch bei der Überwachung der Therapie hilfreich sein können. Die Halbwertszeit (HWZ) von TNF – α beträgt im Plasma 10 bis 25 Minuten (DARGEL, 1995).

Dieses Zytokin spielt eine große Rolle bei der Regulation von physiologischen Vorgängen, wie immunologischen Prozessen, zellulären Proliferationen, Differenzierungen und Apoptose. Daneben ist es aber auch ein Mediator für Entzündungsprozesse und Autoimmunerkrankungen (THORN et al., 2004). Der TNF – α besitzt auch angiogene Eigenschaften und ist damit ein bedeutender Mediator für die Phase der Wundheilung (DARGEL, 1995). Neben metabolischen Veränderungen im Organismus, wie Hypertriglyzeridämie, Hyperglykämie und Hyperlaktatämie, können durch die gemeinsame Ausschüttung von TNF – α und IL – 1 auch endokrine Effekte beobachtet werden. Fieber, Kachexie und eine erhöhte Synthese von APP sind das Ergebnis (DARGEL, 1995).

2. Die Akuten Phase Proteine

Nach der Induktion der APR durch die obengenannten Zytokine kommt es zu einer Konzentrationsänderung von mehr als 200 Proteinen im Plasma. Diese Proteine werden als Akute – Phase – Proteine (APP) bezeichnet (CRAY et al., 2009). Die Konzentration sollte sich dabei um mindestens 25% gegenüber dem Ausgangswert verändern (KUSHNER, 1982; GABAY und KUSHNER, 1999; JACOBSEN und ANDERSEN, 2007).

Hierbei kommt es zum einem zu einer Konzentrationserhöhung bestimmter Proteine, der sog. positiven APP, und zum anderem zu einer Konzentrationserniedrigung bestimmter Proteine, der sog. negativen APP (GRUYS et al., 2005; CRAY et al., 2009). Die Induktion der positiven APP soll mit einer verminderten Synthese der negativen APP, vor allem Albumin, verbunden sein (GRUYS et al., 1994; CRISMAN et al., 2008). Bei nahezu allen Tieren ist Albumin ein negatives APP. Es wird vermutet, dass durch die verminderte Synthese von Albumin in der Leber eine große Anzahl an freien Aminosäuren zur Verfügung steht. Diese Aminosäuren können so für die Synthese von positiven APP oder anderen wichtigen Mediatoren der APR genutzt werden (PALTRINIERI, 2008; CRAY et al., 2009). Neben Zink, Eisen und Albumin wurde auch ein Abfall von Transferrin, Cortisol – bindendem Globulin, Transthyretin und Retinol – bindendem Protein (Vitamin A) beschrieben. Deren Abfall weist darauf hin, dass temporär eine erhöhte Verfügbarkeit von freien Hormonen, welche an diese Proteine normalerweise binden, vorhanden ist. Daher werden die negativen APP von manchen Autoren als „*acute booster reactants*“ bezeichnet (INGENBLEEK und YOUNG, 1994; GRUYS et al., 2005).

Die positiven APP können nach dem Grad ihrer Erhöhung in 3 Gruppen eingeteilt werden (GRUYS et al., 2005).

Die erste Gruppe umfasst Proteine, deren Konzentration sich um 50% erhöht. Hier handelt es sich um die sog. *minor* APP. Als Beispiele können hierfür das Ceruloplasmin (Cp) und der Komplementfaktor C3 genannt werden.

Bei einer Konzentrationserhöhung um das 2 – bis 10fache spricht man von den *moderate* APP. Diese Gruppe der APP weist bei gesunden Individuen eine dauerhaft nachzuweisende Konzentration im Plasma auf und ihre Antwort auf das Entfernen eines Störfaktors ist generell protrahierter. Das Ansteigen ihrer

Konzentration, das Erreichen ihres Plasmapeaks und das Absinken in den Referenzbereich kann Tage bis Wochen dauern (CRISMAN et al., 2008). Beim Pferd sind das Haptoglobin (Hp), Fb, CRP und $\alpha 1$ – saure – Glykoprotein (AGP) Vertreter dieser Gruppe (CRISMAN et al., 2008; BASILE ENG et al., 2013).

Die Konzentration der *major* APP erhöht sich durch einen entzündlichen Stimulus um das 10 – bis 1000fache im Vergleich zu ihrem Ausgangswert (JACOBSEN und ANDERSEN, 2007; CRISMAN et al., 2008; KHAN und KHAN, 2010). Den positiven *major* APP sind zusätzlich folgende Charakteristika gemein: Sie weisen sehr niedrige bis nicht messbare Konzentrationen im Plasma bei gesunden Tieren auf, besitzen einen breiten Messbereich, ihre Konzentration sinkt nach Entfernung des Störfaktors oder einsetzender Heilung rasch ab und es erfolgt ein erneuter Konzentrationsanstieg bei einem Rückfall oder einer sekundären Infektion (JACOBSEN und ANDERSEN, 2007; CRISMAN et al., 2008). Beim Pferd ist das SAA das einzige *major* APP, welches die oben genannten Kriterien erfüllt (JACOBSEN und ANDERSEN, 2007; CRISMAN et al., 2008).

Es muss beachtet werden, dass diese Klassifikation der APP in *minor/moderate/major* nicht unumstößlich ist. Es besteht eine Abhängigkeit davon, welche Messmethode angewendet wird und von welchem Tier das APP stammt. In verschiedenen Publikationen variiert diese Klassifikation (CRAY, 2012). Während beispielsweise BASILE ENG et al. (2013) das Cp als *moderate* APP bezeichnen, zählt es bei GRUYS et al. (2005) zu den *minor* APP.

Die Tabelle (Tab.) 1 zeigt, dass die APP deutliche Unterschiede bei den verschiedenen Tierarten aufweisen, sowohl was ihr Vorkommen betrifft als auch der Grad der Veränderung bei einer Entzündung.

Tabelle 1:

Die major und moderate APP bei verschiedenen Tierarten. Modifiziert nach CRAY et al. (2009).

Tierart	Major – APP	Minor – APP
Katze	$\alpha 1$ – saures Glykoprotein, Serum – Amyloid – A	Haptoglobin
Huhn	-	$\alpha 1$ – saures Glykoprotein, Serum – Amyloid – A, Ceruloplasmin, Transferrin
Kuh	Haptoglobin, Serum – Amyloid – A	$\alpha 1$ – saures Glykoprotein, C – reaktives Protein, Fibrinogen
Hund	C – Reaktives Protein, Serum – Amyloid – A	$\alpha 1$ – saures Glykoprotein, Ceruloplasmin, Haptoglobin
Ziege	Haptoglobin, Serum – Amyloid – A	Fibrinogen
Mensch	C – Reaktives Protein, Serum – Amyloid – A	$\alpha 1$ – saures Glykoprotein, Fibrinogen, Haptoglobin
Maus	Haptoglobin, Serum – Amyloid – A, Serum – Amyloid – P	C – Reaktives Protein, Fibrinogen
Primaten	C – Reaktives Protein	$\alpha 2$ – Makroglobulin, Fibrinogen, Serum – Amyloid – A
Schwein	Haptoglobin, Serum – Amyloid – A, <i>major</i> – Akute Phase Protein	$\alpha 1$ – saures Glykoprotein
Hase	Haptoglobin, Serum – Amyloid – A	$\alpha 1$ – saures Glykoprotein, C – Reaktives Protein, Fibrinogen
Ratte	$\alpha 1$ – saures Glykoprotein, $\alpha 2$ – Makroglobulin	C – Reaktives Protein, Fibrinogen, Haptoglobin
Schaf	Haptoglobin, Serum – Amyloid – A	$\alpha 1$ – saures Glykoprotein, C – Reaktives Protein
Pferd	Serum – Amyloid – A	Fibrinogen, Haptoglobin

Zusätzlich zum Grad der Erhöhung wurden die APP von mehreren Autoren nach der Schnelligkeit ihrer Reaktion auf einen entzündlichen Stimulus unterteilt (siehe dazu Abbildung (Abb.) 1). Die Serumkonzentration von schnell reagierenden – APP, wie das SAA und CRP, kann innerhalb von 4 hr nach einem Reiz ansteigen. Hier wird die Induktion in erster Linie durch die IL – 1 – Typ – Zytokine (IL – 1

und TNF – α) vorgenommen, und sie charakterisieren sich durch einen raschen Anstieg ihrer Serumkonzentration nach einem entzündlichen Stimulus und einer ebenso raschen Normalisierung nach Wegfall des Auslösers. Die *second line* – APP, wie Haptoglobin, werden primär von den IL – 6 – Typ – Zytokinen induziert und sind charakterisiert durch einen späteren Anstieg der Serumkonzentration und einen erhöhten Wert von bis zu 2 Wochen (PETERSEN et al., 2004).

Insgesamt ist das Antwortmuster der verschiedenen APP abhängig von der Tierart. Hiervon ausgenommen ist Albumin, da die Serumkonzentration dieses APP bei allen Säugetieren um 10 bis 30% bei einer Entzündung sinkt (MACKIEWICZ, 1997; SUFFREDINI et al., 1999; VALLE et al., 2015).

Einige der APP sind fetale Proteine, welche im Normalfall nicht im Serum der erwachsenen Tiere gefunden werden, wie das α – Makrofötoprotein bei den Ratten und das AGP bei den meisten Tierarten (VAN GOOL et al., 1984; GRUYS et al., 2005).

In Tab. 2 werden einige APP aufgezählt, welche in der Praxis der Pferdemedizin diagnostisch genutzt werden.

Tabelle 2:

Positive und negative APP beim Pferd. Modifiziert nach JACOBSEN und ANDERSEN (2007).

Akute Phase Proteine	Referenzwert	Plasma – Konzentration bei einer Entzündung	Reaktionszeit (in hr)	
			Zeit der ersten Reaktion	Peak
Serum Amyloid A (mg/l)	0,5 – 2,9	50 – 800	6 – 12	48
Haptoglobin (mg/l)	200 – 1000	400 – 2700	12 – 24	72 – 120
Fibrinogen (mg/l)	2000 – 4000	3000 – 11000	24 – 72	72 – 144
C – Reaktives Protein (mg/l)	7,5	10 – 35	25 – 72	72 – 120
Ceruloplasmin (mg/l)	300 – 400	700 – 900	120	168 – 336
α 1 – saures Glykoprotein (mg/l)	70 – 90	100 – 250	24	72
Albumin (g/l)	30	27,5	144	192 – 240

In der Abb. 1 wird bildlich dargestellt, welche Reaktionszeiten, Konzentrationshöhen und Verläufe verschiedene APP nach einem moderaten entzündlichen Stimulus zeigen.

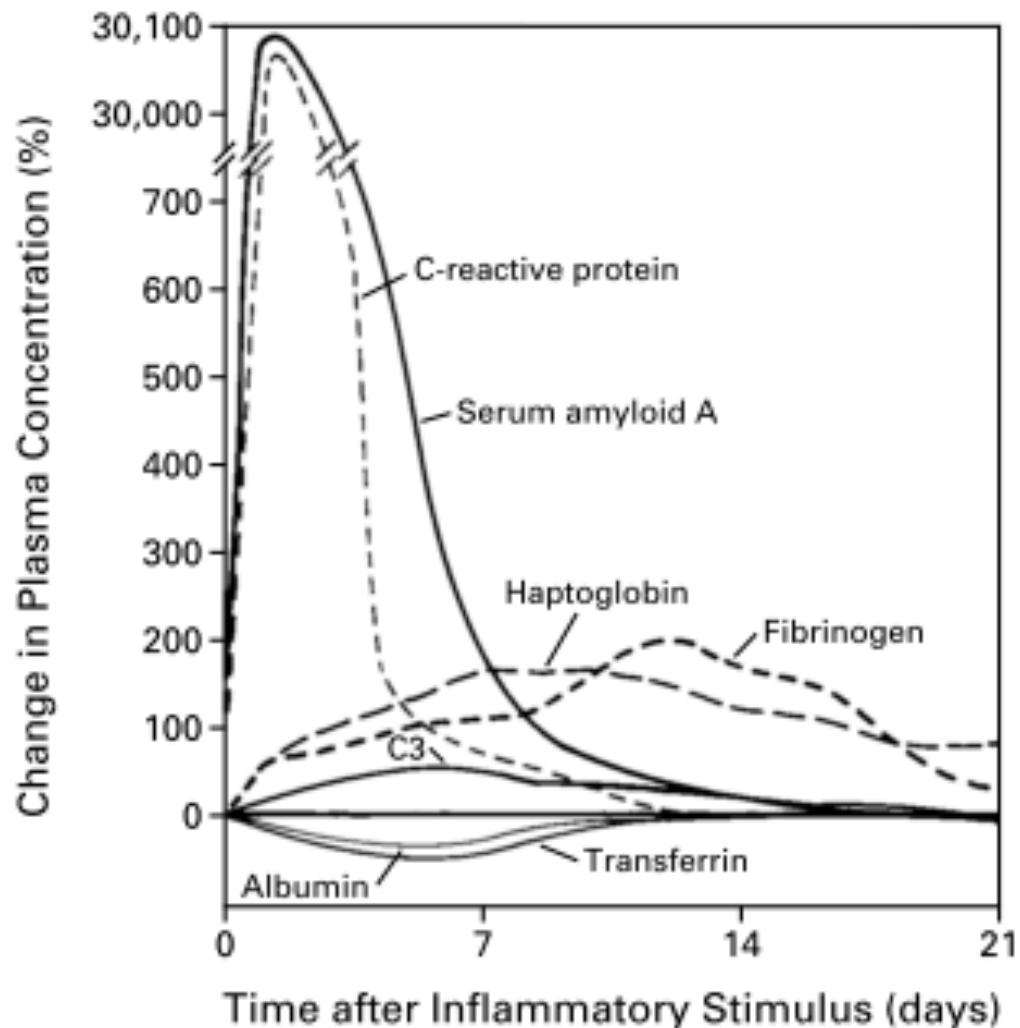


Abbildung 1:

Charakteristischer Verlauf der Konzentrationsveränderungen von verschiedenen APP nach einem moderaten entzündlichen Stimulus. Übernommen von GABAY und KUSHNER (1999).

Im Folgenden werden einige APP kurz beschrieben, welche in der Pferdemedizin ihren Einsatz finden. Die für die vorliegende Studie relevanten APP Fb und SAA werden in den Punkten 3. und 4. des Literaturteil ausführlich behandelt.

2.1. C – Reaktives Protein

Das C – reaktive Protein (CRP) ist ein Ring aus 5 23000 Dalton (Da) Einheiten (Pentraxin) und wurde als erstes APP von TILLET und FRANCIS (1930) im Serum von Patienten entdeckt, nachdem diese an einer Pneumokokken – Infektion erkrankt waren. Das CRP reagiert mit dem C – Polysaccharid der Pneumokokken, wodurch das Protein seinen Namen erhielt (GRUYS et al., 2005; CRAY, 2012). ABERNETHY und AVERY (1941) ordneten das CRP den APP zu und fanden mit weiteren Autoren heraus, dass der Nachweis von CRP im Serum nicht an eine bestimmte Erkrankung, Entzündung oder Gewebeschaden gebunden ist (ASH, 1933; LOFSTROM, 1944).

Das CRP agiert als Opsonin und bindet sowohl direkt an Mikroorganismen als auch an Reste und Polysaccharide von Bakterien, Pilzen und Parasiten und aktiviert somit das Komplementsystem (klassischer Weg) und die Phagozyten. Zusätzlich kann das CRP sowohl die Produktion von Zytokinen als auch die Chemotaxis steuern (GRUYS et al., 2005; CRAY et al., 2009). Es wird beschrieben, dass das CRP auch in das adaptive Immunsystem eingreift, indem es mit dem Fc – γ – Rezeptor von AK reagiert (DU CLOS und MOLD, 2001; CRAY, 2012).

YAMASHITA et al. (1991) konnten die Einflüsse von Alter, Geschlecht, Geburt und Entzündung auf das CRP beim Pferd näher definieren. Bei neugeborenen und gesunden Fohlen lag die CRP – Konzentration vor der Kolostrumaufnahme unter der Nachweisgrenze von 1 $\mu\text{g/ml}$. Die Einnahme von Kolostrum scheint einen Konzentrationsanstieg dieses APP zu verursachen. Pferde mit einem Alter von 1 Jahr zeigen einen Höchstwert von CRP im Serum (circa 14 $\mu\text{g/ml}$). Danach scheint die physiologische CRP – Konzentration der Pferde wieder zu sinken. Vierjährige Pferde wiesen Konzentrationen von nur 5,4 $\mu\text{g/ml}$ im Serum auf, wobei Stuten geringere Werte als männliche Tiere im selben Alter zeigten. Ab dem 5. Lebensjahr stabilisierte sich die Serumkonzentration von CRP auf einen Wert von 7 – 8 $\mu\text{g/ml}$.

Bei trächtigen Stuten sank die Konzentration dieses APP in den letzten 4 Monaten vor der Geburt und erreichte 2 Monate vor dieser ihr Minimum. Kurz vor dem Abfohlen konnte ein Anstieg beobachtet werden. Danach erfolgte ein Absinken der Konzentration bis zum 2. Monat *post partum* und der CRP – Wert pendelte sich danach wieder auf einen relativ hohen Wert von mehr als 10 $\mu\text{g/ml}$ ein (YAMASHITA et al., 1991).

Während bei einer septischen Reaktion beim Menschen die CRP – Konzentration innerhalb von 24 – 48 hr um das 1000fache ansteigt, fällt die Reaktion und die Konzentrationserhöhung von equinem CRP auf einen entzündlichen Reiz hin deutlich geringer aus (CERMAK et al., 1993; ZABRECKY et al., 2015). Experimentell gesetzte Entzündungen verursachten circa 24 hr danach einen Anstieg von CRP mit einem Peak am 3. bis 5. Tag. Der Wert war circa 3 – bis 6mal so hoch wie der Ausgangswert. Nach etwa 2 bis 4 Wochen sank der CRP – Wert wieder auf das physiologische Niveau ab. Auch nach Operationen wie Kastrationen kam es zu einer Konzentrationserhöhung (YAMASHITA et al., 1991). Studien zeigten, dass das CRP bei aseptischen Entzündungen durch Terpentinöl – Injektionen in den Muskel, bei Pneumonien, Enteritiden, Arthritiden und Hufrehe innerhalb von 3 bis 5 Tagen eine moderate Konzentrationserhöhung erfuhr (TAKIGUCHI et al., 1990; YAMASHITA et al., 1991; FAGLIARI et al., 1998; ZABRECKY et al., 2015).

Das CRP stellt beim Pferd im Vergleich zum Menschen oder zu Hunden kein *major* APP dar (YAMASHITA et al., 1991; CRAY, 2012). Viele Autoren stufen das CRP als ein *minor* APP beim Pferd ein und beschreiben Ähnlichkeiten seines Verhaltens bei Entzündungen, Infektionen oder Traumen zu dem Fb und Hp (CAMPBELL et al., 1981; MATTHEWS, 1982; ALLEN und KOLD, 1988; PATTERSON et al., 1988; TAIRA et al., 1992a). Insgesamt spielt es in der Diagnostik von Entzündungen beim Pferd eine untergeordnete Rolle.

2.2. Transferrin

Transferrine sind eine Reihe von homologen, glykosylierten Proteinen, welche Metalle binden können und damit hauptsächlich für den Transport von Eisen in die Zelle verantwortlich sind und damit bakteriostatische Wirkung haben (AISEN und LISTOWSKY, 1980; PENHALLOW et al., 1991).

Das Transferrin ist vermutlich ein positives APP bei Vögeln, während es bei den Säugetieren ein negatives APP darstellt (XIE et al., 2002; MURATA et al., 2004; CRAY et al., 2009).

Dieses APP spielt eine wichtige Rolle in der Verteilung von Eisen. Das Transferrin erhält Eisen von den retikuloendothelialen Zellen, aus dem parenchymalen Gewebe

und von der Darmmukosa und verteilt dieses an das rote Knochenmark und anderes Gewebe, welches für die Synthese und die Lagerung von Eisen zuständig ist (HARRISON und AROSIO, 1996).

FEUTZ et al. (2015) konnten in der bronchoalveolären Lavage (BAL) mittels Transferrin zwischen gesunden Pferden, akuten Lungenerkrankungen (*inflammatory airways disease*, IAD) und der chronischen Form (*recurrent airways obstruction*, RAO) unterscheiden. Die Expression dieses negativen APP war bei Pferden mit RAO in der BAL geringer als bei Patienten mit IAD und bei gesunden Probanden.

2.3. Alpha 1 – saures Glykoprotein

Das Alpha 1 – saure Glykoprotein (AGP) oder Orosomucoid ist ein 41 – 43 Kilodalton (kDa) Glykoprotein und ein *major* APP bei Menschen, Ratten, Mäusen und Katzen (FOURNIER et al., 2000). Das AGP wird hauptsächlich in der Leber und den Parenchymzellen synthetisiert (LUO et al., 2015), jedoch auch extrahepatische Zellen und Gewebe, wie Monozyten, Makrophagen, Leukozyten, Granulozyten, Lunge, Niere, Milz, Fettgewebe oder Zellen der Verdauungsorgane, sollen dieses APP produzieren (BERGER et al., 1977; FOURNIER et al., 2000; LUO et al., 2015).

Das systemische AGP hat 2 physiologische Hauptfunktionen: die Bindung von Medikamenten und die Modulation der Immunreaktion. Neben der Bindung von Lipopolysacchariden (LPS) und deren Neutralisierung (MOORE et al., 1997) kann dieses APP auch zahlreiche Medikamente, wie Heparin, Serotonin, Steroide (wie Progesteron) und Histamin, binden und unterstützt dabei den Medikamententransport (FOURNIER et al., 2000). Diese Fähigkeit könnte während einer APR ein Ausgleich für die Bindung von Medikamenten sein, da die Konzentration von Serum – Albumin, einem negativen APP und einem Hauptträger von Medikamenten, erniedrigt ist (MURATA et al., 2004; CRAY et al., 2009).

Das AGP agiert auch antiinflammatorisch. Es kann das Leukozyten – Rolling und die Adhäsion sowie die Migration verhindern, senkt die Chemotaxis und Migration von Neutrophilen (LUO et al., 2015), erhöht die Sekretion von IL – 1 – ra durch Makrophagen (FOURNIER et al., 2000), hemmt die Aktivität des

Komplementsystems (CRAY et al., 2009), beeinflusst die T – Zell – Aktivität (GRUYS et al., 2005) und verhindert die mitogen – induzierte Proliferation von Lymphozyten (ITOH et al., 1989).

Eine gesteigerte Serumkonzentration ist als Antwort auf systemische Gewebetraumen, Entzündungen, Infektionen und Verletzungen zu sehen und wird durch regulatorische Mediatoren geregelt. Das AGP gehört wie das SAA und CRP, zu den Typ – 1 – APP, welche hauptsächlich durch die Zytokine IL – 1 und auch IL – 6 reguliert werden. Als Hauptmediatoren für die AGP – Gen – Expression sind das IL – 1, IL – 6, IL – 8, IL – 11, der TNF – α , IL – 6 ähnliche Zytokine und Glukokortikoiden zu nennen (BAUMANN und GAULDIE, 1990; ALAM und PAPAConstantinou, 1992; WIGMORE et al., 1997; FOURNIER et al., 2000; LUO et al., 2015). Aber auch endogene und exogene Faktoren, wie Phenobarbital, Rifampicin, Retinsäure und Makrolid – Antibiotika, scheinen eine AGP – Konzentrationserhöhung bewirken zu können (LIN et al., 1987; KOMORI et al., 2001; MOUTHIERs et al., 2004; LUO et al., 2015).

Die Plasma – Konzentration von AGP steigt während pathologischen Zuständen (Infektionen, Entzündungen, Tumore, Sepsis, Gewebeschäden oder Nekrose) um das 1 – bis 10fache, wobei die Höhe vom Grad der Krankheit/Entzündung abhängig ist (KREMER et al., 1988; LUO et al., 2015). FOURNIER et al. (2000) bezeichnen das AGP sowohl als einen sensitiven Index für den Grad einer Entzündung oder Verletzung als auch einen prognostischen Parameter für einen Behandlungserfolg. Verschiedene Autoren konnten beim Pferd einen AGP – Anstieg nach Operationen, wie Kastrationen oder Jejunojejunostomie (TAIRA et al., 1992a), sowie nach Erkrankungen an dem *grass sickness syndrome* (MILNE et al., 1991) und an kohlehydratinduzierter Hufrehe (FAGLIARI et al., 1998) feststellen.

2.4. Alpha 2 Makroglobulin

Das alpha 2 – Makroglobulin (α 2MG) ist neben alpha 1 – Antitrypsin (AT) und alpha 1 – Antichymotrypsin ein universeller Protease – Hemmer. Die Hauptsynthese von α 2MG findet während der APR in der Leber statt. Dieses APP hat einen hemmenden Effekt auf die Protease – Aktivität und ist damit ein wichtiges APP für die Entfernung von Proteasen während Verletzungen (MURATA et al., 2004; CRAY et al., 2009). Das α 2MG bindet Proteasen mittels eines molekularen

Fangmechanismus und liefert die gebundenen Proteasen an ein rezeptorvermitteltes endozytotisches System für die Degeneration in Lysosomen (ARMSTRONG und QUIGLEY, 1999; ARMSTRONG, 2006). Zusätzlich spielt das α 2MG eine wichtige Rolle als Trägerprotein für das IL – 6, indem es dieses Zytokin vor der Degeneration von Proteasen im Plasma schützt (MATSUDA et al., 1989; MURATA et al., 2004). Weiter verhindert das α 2MG die Superoxid – Produktion der Neutrophilen und Makrophagen (TILG et al., 1997).

In Gewebeproben der Lunge sowie in der BAL von Pferden mit Lungenerkrankungen wurde das α 2MG nachgewiesen und WINDER et al. (1989) vermuteten eine Produktion dieses APP in den Alveolar – Makrophagen. MILNE et al. (1992) fanden heraus, dass das α 2MG bei Pferden mit dem akuten *grass sickness syndrome* eine signifikant höhere Konzentration aufwies als bei gesunden Pferden oder der chronischen *grass sickness* Form. PRITCHETT und PAULSON (1989) konnten die Bindung von equinen α 2MG an Hämagglutinin von Influenzaviren nachweisen. Durch diese Bindung wird die Anheftung der Viren an Zellen verhindert.

2.5. Ferritin

Das Ferritin ist bekannt als ein Eisen – Speicher – Protein, welches das intrazelluläre Eisen entgiftet (CAZZOLA et al., 1990; HARRISON und AROSIO, 1996), aber auch als ein APP gilt (FRIEDRICHS et al., 2010). Es wird sowohl in der Leber als auch in Zellen des blutbildenden Systems produziert (YODA und ABE, 1980). Das aus Polypeptid – Ketten bestehende APP kann in seinem Zentrum Eisen aufnehmen und damit das Gewebe vor der Toxizität des Eisens schützen (AROSIO et al., 2009).

DONDI et al. (2015) untersuchten in ihrer Studie unter anderem das Verhalten von Ferritin bei Pferden mit Kolik. Pferde, welche die Kolik nicht überlebten, wiesen einen erhöhten Ferritin – Gehalt im Blut auf als die überlebenden Tiere. Ebenso konnten erhöhte Konzentrationen von Ferritin bei Pferden mit einem strangulierendem/ischämischen Ileus gemessen werden verglichen mit der Gruppe der Pferde, welche einen nicht – strangulierenden/nicht – ischämischen Ileus hatten. Dies lässt annehmen, dass bei den Tieren, welche die Kolik nicht überlebt haben,

eine stärkere APR ausgelöst wurde oder vermehrt Ferritin aus dem geschädigten Gewebe austritt. Dazu sind aber noch weitere Studien nötig.

Eine Erhöhung von Ferritin im Blut konnte 24 hr nach dem Training von Pferden festgestellt werden. Die Autoren vermuteten, dass dies die Folge der Milz – Kontraktion und der damit verbundenen Ausschüttung von Ferritin aus der Milz war (HYYPÄ et al., 2002).

2.6. Lipopolysaccharid – bindendes Protein

Das Lipopolysaccharid – bindende Protein (LBP) ist ein 58 kDa APP, welches die Fähigkeit hat, bakterielles LPS zu binden (SCHUMANN et al., 1990; SCHUMANN und ZWEIGNER, 1999). Es bindet an die Lipid – A Untereinheit von bakteriellen LPS. Dieses APP gehört zu der Klasse der schnell reagierenden APP und wird somit durch IL – 1 und IL – 6 induziert (SCHUMANN et al., 1996). Im Plasma fungiert das LBP als Trägerprotein für LPS und kontrolliert somit die LPS abhängige Antwort der Monozyten (SCHUMANN et al., 1990).

VANDENPLAS et al. (2005) stellten in ihrer Studie fest, dass die Serumkonzentration von LBP kein hilfreicher Parameter war, um Koliken mit und ohne LPS zu unterscheiden und eine Prognose hinsichtlich der Überlebensrate der Pferde zu stellen.

2.7. Albumin

Das Albumin ist ein negatives APP und reguliert den kolloid – osmotischen Druck (CRAY et al., 2012). Nach einem entzündlichen Stimulus sinkt die Konzentration bei allen Säugetieren um 10 bis 30% ab (SUFFREDINI et al., 1999; VALLE et al., 2015). Während der APR ist der Bedarf an Aminosäuren für die Synthese der positiven APP deutlich erhöht. Daher wird die Albuminsynthese herunterreguliert und die damit freien Aminosäuren werden für die Synthese der positiven APP genutzt (JACOBSEN und ANDERSEN, 2007; CRISMAN et al., 2008). Weitere Gründe für eine Konzentrationsabnahme von Albumin sind Verluste über die Niere oder den Darm, Ödeme oder auch eine verminderte Synthese bei einer Leberinsuffizienz oder bei Malnutrition (CRAY et al., 2012).

2.8. Coeruloplasmin

Das Coeruloplasmin (Cp) ist verantwortlich für den Transport von circa 95% des Plasma – Kupfers (HOLMBERG und LAURELL, 1948; BASILE ENG et al., 2013). Biochemische Studien haben gezeigt, dass Kupfer eine Verbindung zwischen dem Knorpel und dem subchondralen Knochengewebe formt. Ein Kupfermangel kann so zur *Osteochondrosis dissecans* bei Pferden führen (HURTIG und POOL, 1996; BASILE ENG et al., 2013).

Das Cp bindet freie Radikale, Toxine, Eisen und Transferrin und hat eine Histaminase – und Ferroxidaseaktivität, wobei toxisches Eisen in seine nicht – toxische Form gebracht wird (COUSINS und SWERDEL, 1985; PATEL et al., 2002; MURATA et al., 2004; GRUYS et al., 2005; CRAY et al., 2009; EL – DEEB et al., 2014). Seine antiinflammatorische Wirkung erzielt das Cp, indem es die Anzahl der neutrophilen Granulozyten, welche am Entzündungsort anhaften, reduziert (BROADLEY und HOOVER, 1989; SEGELMARK et al., 1997; MURATA et al., 2014). Des Weiteren ist das Cp noch in verschiedene oxidationshemmende und zellschützende Prozesse eingebunden (INOUE et al., 1999).

Das Cp wird primär in der Leber synthetisiert, aber auch eine extrahepatische Produktion (z.B. Lungenepithel) findet statt (PAN et al., 1996; YANG et al., 1996; MAZUMDER et al., 1997).

Klinisch gesunde, neugeborene Fohlen weisen einen Cp – Gehalt von 2,9 mg/ml ($\pm 0,4$) im Serum auf. Erwachsene Pferde dagegen haben eine Cp – Konzentration von 5,0 mg/ml ($\pm 0,9$). Nach einem entzündlichen Stimulus, wie nach Kastrationen, Jejunojejunostomien oder intramuskuläre Injektionen mit Terpentinöl, steigt die Cp – Konzentration nach 6 Tagen, erreicht eine Höchstkonzentration am 7. bis 14. Tag und sinkt bis zum 28. Tag wieder auf seinen Ausgangswert ab (OKUMURA et al., 1991). Bei akuter Hufrehe findet man im Blut ebenfalls eine Konzentrationserhöhung von Cp (FAGLIARI et al., 1998).

2.9. Haptoglobin

Das Haptoglobin (Hp) ist ein α_2 – Globulin und gehört beim Pferd zu den *moderate* APP (MURATA et al., 2004; CRISMAN et al., 2008). Es steigt nach einem

entzündlichen Stimulus um das 1 – bis 10fache seines Referenzwertes (2 – 10 g/l) an (CRISMAN et al., 2008). ZABRECKY et al. (2015) bezeichnen das Hp dagegen als ein *minor* APP. Dies begründen sie damit, dass eine moderarte Konzentrationserhöhung 4 bis 6 Tagen nach einem Entzündungsstimulus stattfindet.

Nach PIHL et al. (2013) wurden bei gesunden Pferden Hp – Werte von 728 – 4265 mg/l im Serum gemessen. In der Bauchhöhlenflüssigkeit lagen die Werte von Hp zwischen 109 – 726 mg/l. Das Hp soll nach CYWINSKA et al. (2011) im Serum von Stuten eine höhere Konzentration aufweisen als bei Hengsten und auch die Breite der Referenzwerte ist bei Stuten größer als bei den männlichen Pferden (PIHL et al., 2013). Das Alter ist negativ mit der Serum – Hp – Konzentration assoziiert (TAIRA et al., 1992b; PIHL et al., 2015).

Hauptsächlich wird das Hp von Hepatozyten produziert (CRISMAN et al., 2008). Bei lokalen Entzündungsprozessen produzieren auch Darmzellen und Zellen des Peritoneums dieses APP (BOUDREAU et al., 1997; PIVA et al., 2001; PIHL et al., 2013).

Eine Hauptfunktion von Hp ist es, den Verlust von Eisen zu verhindern, indem es einen stabilen Komplex mit freiem Hämoglobin (Hb) im Blut bildet (CRISMAN et al., 2008). Dieser Hp – Hb – Komplex wird von den Hepatozyten wieder aufgenommen und erlaubt eine Wiederverwendung von Eisen und Aminosäuren. Damit ist auch die freie Verfügbarkeit von Eisen für die Bakterien limitiert, welches für das Wachstum dieser nötig ist. So zeigt das Hp auch einen bakteriostatischen Effekt (CRISMAN et al. 2008; CRAY et al., 2009). Es reduziert das oxidative Potential von Hb und verhindert die Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies. Damit wirkt es antiinflammatorisch (SAKATA et al., 1986; MURATA et al., 2004; BORGES et al., 2007; CRISMAN et al., 2008; NIELSEN et al., 2010; SCOPPETTA et al., 2012). Zusätzlich wird dem Hp auch ein immunregulatorischer Effekt zugeschrieben, indem es die Chemotaxis, die Phagozytose und die bakterizide Aktivität der Granulozyten verhindern kann (MURATA et al., 2004; CRAY et al., 2009). Das Hp hilft durch Stimulation der Angiogenese außerdem bei der Wundheilung (CID et al., 1993; GABAY und KUSHNER, 1999).

Eine Erhöhung von Hp konnte bei verschiedenen entzündlichen Prozessen beobachtet werden. Hierzu zählen Infektionen, Stress, Traumata und Allergien

(CRISMAN et al., 2008). Aber auch andere Faktoren können für die Höhe von Hp eine Rolle spielen, wie zum Beispiel akute hämolytische Prozesse. Hier wird Hb frei und sofort von Hp gebunden, was ein Absinken der Hp – Konzentration zur Folge hat. Obwohl es also ein positives APP ist, sinkt die Konzentration von Hp damit bei massiver Erythrolyse und bei hämolytischen Prozessen (SMITH und ROBERTS, 1994; GRUYS et al., 2005; CRISMAN et al., 2008). Das Hp ist damit ein sensibler Indikator für eine intra – oder extravaskuläre Hämolyse (ALLEN und ARCHER, 1971; CRISMAN et al., 2008).

Beim Pferd wurden erhöhte Hp – Werte nach Operationen, nicht – infektiösen Arthritiden und kohlehydratinduzierter Hufrehe gemessen (KENT und GOODALL, 1991; FAGLIARI et al., 1998; HULTEN et al., 2002).

Nach chirurgischen Eingriffen konnte ein Peak der Hp – Konzentration 3 bis 5 Tage nach der Operation festgestellt werden. Bei Kastrationen mit einem nachfolgenden Hämatom war die Hp – Konzentration jedoch nicht erhöht, da das Hp gebunden an Hb nicht gemessen werden konnte (KENT und GOODALL, 1991).

Impfungen gegen Influenza und Tetanus verursachen keine Konzentrationsveränderung von Hp (KENT und GOODALL, 1991).

WESTERMAN et al. (2016) konnten in ihrer Studie zeigen, dass das Hp sich nicht als diagnostische und prognostische Indikator für Pferde mit Kolik eignet. Allerdings könnte ein erhöhter Hp – Wert darauf hinweisen, dass die eingelieferten Pferde unter einer chronischen Entzündung leiden. Es wird daher empfohlen, dass bei stationär aufgenommenen Pferden zumindest ein *major* und ein *moderate* APP bestimmt wird, um so den Verlauf der Kolik besser einschätzen zu können (CERÓN et al., 2008).

Im Vergleich zu dem *major* APP SAA zeigt das Hp einen relativen hohen und breiten Referenzbereich, einen deutlich geringeren Anstieg nach einem entzündlichen Stimulus und eine Abhängigkeit von Geschlecht und Alter. Ebenso wird die Konzentrationshöhe von Hp durch mehrere Faktoren (z.B. hämolytische Prozesse) beeinflusst. Diese Eigenschaften führen dazu, dass das SAA dem Hp als diagnostischer Parameter überlegen ist.

3. Fibrinogen

Im folgenden Punkt wird das APP Fibrinogen (Fb) beschrieben, welches in der vorliegenden Arbeit in einer Teilstudie bei den Probanden gemessen wurde. Dabei werden die unterschiedlichen Konzentrationsveränderungen von Fb und dem *major* APP SAA nach einem entzündlichen Stimulus (Kastration) betrachtet.

In der Pferdemedizin ist das Fb das wahrscheinlich meist verwendete APP. Der Grund dafür ist die Verfügbarkeit von Testverfahren, welche einfach, schnell und mit geringem Kostenaufwand durchzuführen sind (JACOBSEN und ANDERSEN, 2007; JACOBSEN und KJELGAARD – HANSEN, 2008).

Das Fb stellt die Grundlage für die Fibrinformation bereit und ist damit ein wichtiger Faktor für die Wundheilung (CRAY et al., 2009).

Bei gesunden Pferden weist das Fb eine hohe Konzentration mit einem weiten Referenzbereich (200 – 400 mg/dl) auf und nach einem entzündlichen Stimulus steigt das Fb nur 2 – bis 4mal so hoch an (JACOBSEN und ANDERSEN, 2007; CRISMAN et al., 2008; WESTERMAN et al., 2016). Der erste Anstieg dieses APP erfolgt 24 bis 72 hr nach einem Eingriff, wie Laparotomien, Kastrationen oder experimentell induzierten aseptischen Arthritiden (ALLEN und KOLD, 1988; FEIGE et al., 2003; JACOBSEN et al., 2005; JACOBSEN und ANDERSEN, 2007; KJELGAARD – HANSEN und JACOBSEN, 2011; BELGRAVE et al., 2013). Der Peak, welcher 2 – bis 3fach so hoch wie der Ausgangswert ist, wird nach 72 bis 144 hr erreicht (ALLEN und KOLD, 1988; JACOBSEN et al., 2005; JACOBSEN und ANDERSEN, 2007). Das Absinken der Konzentration in den Referenzbereich nach überstandener Krankheit bzw. Abklingen der Entzündung kann oft Wochen dauern (KJELGAARD – HANSEN und JACOBSEN, 2011; BELGRAVE et al., 2013). Die HWZ des Fb im Blut beträgt beim Pferd 4 bis 5 Tage (JAIN, 1993).

Es wird als mäßig sensitiv bezeichnet und stellt bei den Pferden ein *minor* APP dar (JACOBSEN et al., 2005; JACOBSEN und ANDERSEN, 2007; JACOBSEN und KJELGAARD – HANSEN, 2008).

Die Bestimmung von Fb wird durch mehrere Faktoren, wie durch den Verbrauch bei einer Koagulopathie oder bei einer erhöhten vaskulären Permeabilität, negativ beeinflusst, wodurch eine falsch niedrige Fb – Konzentration gemessen wird (ANDREWS et al., 1994; JACOBSEN und ANDERSEN, 2007; BELGRAVE et

al., 2013).

Die Messung der Fb – Konzentration kann nach 2 unterschiedlichen Prinzipien erfolgen. Zum einen kann der in vivo homöostatisch aktive Fb – Anteil gemessen werden, wobei beispielsweise das Messverfahren nach CLAUSS (1957) genutzt wird. Die 2. Möglichkeit ist die Bestimmung aller Fb – Moleküle unabhängig ihrer Funktion (Messmethode: Hitzepräzipitation oder Immunologie) (MISCHKE, 1997).

In einer Studie konnte eine Altersabhängigkeit des Fb festgestellt werden (BRUGMANS et al., 1998). Fohlen bis zu einem Alter von 6 Monaten wiesen signifikant höhere Fb – Werte (3,3 g/l; Standardabweichung (SD) \pm 0,4) als Tiere im Alter zwischen 3 und 19 Jahren (2,9 g/l; SD \pm 0,65) auf. Pferde, welche älter als 20 Jahre waren, hatten eine deutlich niedrigere Konzentration (2,5 g/l; SD \pm 0,5). Dagegen steht die Studie von BARTON et al. (1995). Die Autoren untersuchten Fohlen bis zu einem Alter von 30 Tagen und ermittelten deutlich geringere Fb – Werte als bei adulten Tieren. Besonders niedrig waren die Werte bei Fohlen, welche jünger als 24 hr waren.

CAMPBELL et al. (1981) konnten bei einem Vergleich verschiedener Rassen keinen Unterschied der Fb – Konzentration feststellen.

In einer Studie von PASSAMONTI et al. (2015) konnte gezeigt werden, dass das Fb für das Monitoring bei Infektionen mit *Rhodococcus equi* (*Rh. equi*) bei 2 bis 5 Wochen alten Fohlen besser geeignet ist als das *major* APP SAA. Die Konzentration von SAA stieg zwar bei einer akuten Infektion, stellte aber keinen Früherkennungsmarker für eine solche Infektion dar. Dagegen war eine wöchentliche Messung der Fb – Konzentration bei Fohlen, die älter als 1 Woche waren, eine geeignete Methode für die Früherkennung der Infektion. Die Bestimmung der Gesamtleukozyten war nach einer Studie von GIGUERE et al. (2003) den beiden APP in der Früherkennung von *Rh. equi* – Infektionen beim Fohlen sogar überlegen.

Deutlich erhöhte Fb – Werte können auch bei Pferden mit Koliksymptomen, nach Kolikoperationen, bei Endotoxämien, nach Hufrehe, experimentell induzierter aseptischer Arthritis, chronischen Entzündungen und verschiedenen Weichteiloperationen (Kastrationen) beobachtet werden (BARTON et al., 1997; MILLS et al., 1998; FAGLIARI et al., 1998; TOPPER und PRASSE, 1998;

HULTEN et al., 2002; FEIGE et al., 2003; POLLOCK et al., 2005; JACOBSEN et al., 2005).

Die Eigenschaften von Fb in Folge auf einen entzündlichen Reiz zeigen, dass dieses APP deutliche Nachteile gegenüber dem *major* APP SAA hat. Jedoch in Kombination mit dem SAA kann es dem Tierarzt wertvolle Informationen bezüglich der Dauer einer Entzündung geben.

4. Serum Amyloid A

Aus den zahlreichen verschiedenen APP hat sich das Serum Amyloid A (SAA) als besonders sensibler Parameter für Entzündungen in der Pferdemedizin hervor getan. Im Folgenden wird nun dieses APP, welches in dieser wissenschaftlichen Arbeit die Hauptrolle spielt, genauer beschrieben. Weiterhin werden die Einsatzbereiche in verschiedenen Bereichen der Pferdemedizin aufgezeigt.

KENT beschrieb 1992 die Charakteristiken eines APP, welches für die Tierärzte von hohem diagnostischem Wert in der Praxis wäre:

Ein diagnostisch hilfreiches APP sollte einen nicht nachweisebaren oder sehr niedrigen Ausgangswert und einen engen Referenzbereich aufweisen. Alter, Geschlecht, Ernährungszustand oder die Genetik des Lebewesens sollten keinen Einfluss auf das APP haben. Ebenso sollten nichtentzündliche Erkrankungen, Training, Transport oder geringgradige Stresssituationen den APP – Wert nicht beeinflussen. Auf eine Entzündung, Infektion oder Gewebeschaden sollte das APP schnell auf ein hohes Niveau (über 100fach) ansteigen, wobei die Höhe des Laborwertes das Ausmaß des entzündlichen Reizes und den Schaden des Gewebes widerspiegeln sollte. Nach einer erfolgreichen Therapie sollte die Konzentration des APP schnell absinken. Auf einen neuen entzündlichen Reiz oder eine sekundäre Infektion sollte das APP mit einem erneuten Anstieg der Konzentration reagieren.

Die Eigenschaften und Reaktionen von SAA auf Entzündungen, Infektionen oder Gewebeschäden beim Pferd zeigen eine Reihe der oben beschriebenen Merkmale und machen somit das SAA zu einem sensiblen und diagnostisch wertvollen Parameter in der Diagnostik der Pferdemedizin (JACOBSEN und ANDERSEN, 2007).

Mit der Entwicklung von Schnellmessgeräten können die positiven Eigenschaften dieses Laborparameters noch optimaler genutzt werden als bei Messungen in externen Laboren. Mittels Schnellmessgeräten bekommt der Tierarzt jederzeit vor Ort am Pferd eine Einschätzung über den SAA – Wert und kann die Therapie somit direkt und gezielter abstimmen. Auch die Kontrolle der Behandlung, beispielsweise bei der Anwendung von Antibiotika, kann mit Hilfe eines Schnellmessgerätes schneller erfolgen und die Medikamente können gegebenenfalls angepasst werden. Bei Messungen von SAA in externen Laboren entsteht immer ein zeitlicher Verlust und damit ein Nachteil für die Behandlung des Pferdes.

4.1. Eigenschaften von SAA

Das SAA ist ein Apolipoprotein, welches im Plasma vor allem konjugiert mit der *High Density* Lipoproteinfraktion 3 (HDL₃) vorliegt und ein Molekulargewicht von 9 bis 11 kDa hat (NUNOKAWA et al., 1993; JENSEN und WHITEHEAD, 1998). Es wurde von HUSEBEKK et al. (1986) das erste Mal isoliert und die komplette Aminosäuren – Sequenz dieses Proteins wurde von SLETTEN et al. (1989) in einer Publikation veröffentlicht.

Es können 2 Gruppen von SAA unterschieden werden: das akute SAA (A – SAA) und das konsekutive SAA (C – SAA). Während die Plasmakonzentration von A – SAA bei einer APR ansteigt, verändert eine Entzündungssituation die Konzentration von C – SAA im Plasma nicht (UPRAGARIN et al., 2005). Bei Vögeln konnte nur ein SAA – Typ beschrieben werden, welcher dem A – SAA der Säugetiere entspricht (GUO et al., 1996; OVELGÖNNE et al., 2001; KOVACS et al., 2005).

Beim Pferd konnten im Serum 3 SAA – Isoformen mit verschiedenen isoelektrischen Punkten (pI) isoliert werden und dem A – SAA zugeteilt werden: SAA pI 8,0, SAA pI 9,0 und SAA pI 9,7 (HULTEN et al., 1997). JACOBSEN et al. (2006a) konnten in der Gelenksflüssigkeit von Pferden 2 weitere Isoformen mit einem pI von 10,0 und 10,2 isolieren.

Bei einem gesunden Pferd kann das SAA im Blut nur in sehr geringer Konzentration oder gar nicht nachgewiesen werden (JACOBSEN und ANDERSEN, 2007). Die Referenzwerte von SAA im Plasma sind in der Literatur

sehr unterschiedlich angegeben. Dabei befinden sich die Plasma – Werte von SAA meist im einstelligen mg/l – Bereich. Die Tab. 3 (Punkt 4.2. im Literaturteil) gibt zusammen mit den verschiedenen Messmethoden eine Übersicht über die Referenzwerte.

Der Referenzwert in der Bauchhöhlenflüssigkeit ist bei gesunden Pferden zwischen 0,5 – 8,8 mg/l (PIHL et al., 2013).

In Gelenken von gesunden Pferden liegt die SAA – Konzentration bei unter 1 mg/l (NOLEN – WALSTON, 2015).

Nach einem entzündlichen Stimulus steigt die SAA – Konzentration um mehr als das 100 bis 1000fache innerhalb von 6 bis 12 hr an (TAPE und KISILEVSKY, 1990; NOLEN – WALSTON, 2015). Die Maximalwerte von SAA werden 36 bis 48 hr nach Beginn einer Entzündung erreicht (NUNOKAWA et al., 1993; JACOBSEN und ANDERSEN, 2007; LUDWIG et al., 2016).

Die HWZ von SAA ist sehr kurz. Dies führt dazu, dass sobald der auslösende Stimulus entfällt die Plasmakonzentrationen nach Beendigung der Synthese sehr schnell wieder absinken (JACOBSEN und ANDERSEN, 2007). Bei Labortieren betrug diese 30 min bis 2 hr (HOFFMAN und BENDITT, 1983; UHLAR und WHITEHEAD, 1999; JACOBSEN und ANDERSEN, 2007). Während einige Autoren beim Pferd von einer HWZ von circa 30 bis 120 Minuten berichten (TAPE und KISILEVSKY, 1990; NOLEN – WALSTON, 2015), legten LUDWIG et al (2016) die HWZ von equinem SAA bei 24 hr fest. Ein Rückgang der Entzündung durch eine erfolgreiche Therapie oder durch die Ausheilung einer Krankheit lässt die SAA – Konzentration parallel dazu sinken, während andere Entzündungsmarker, wie das Fb oder Hp, nach überstandener Krankheit deutlich länger über ihrem Referenzwert liegen (ALLEN und KOLD, 1988; TAIRA et al., 1992b; NUNOKAWA et al., 1993; HULTEN und DEMMERS, 2002; JACOBSEN und ANDERSEN, 2007).

Das SAA ist geschlechtsunabhängig (NUNOKAWA et al., 1993; POLLOCK et al., 2005; JACOBSEN und ANDERSEN, 2007; PIHL et al., 2013/2015), jedoch besteht eine Abhängigkeit vom Alter (siehe dazu auch Tab. 3 in Punkt 4.2. im Literaturteil). NUNOKAWA et al. (1993) konnten in ihrer Studie zeigen, dass das SAA bei Fohlen (unter 1 Woche alt) und bei Pferden, die älter als 8 Jahre waren, einen höheren Referenzwert hatte als bei Pferden in anderen Altersgruppen.

Dagegen konnten andere Autoren sowohl bei neugeborenen Fohlen als auch bei älteren Fohlen keine erhöhten SAA – Konzentrationen nachweisen (CHAVATTE et al., 1992; STONEHAM et al., 2001; POLLOCK et al., 2005; JACOBSEN und ANDERSEN, 2007).

Die Trächtigkeit bei gesunden Stuten scheint keinen großen Einfluss auf die SAA – Konzentration im Blut zu haben. Nach der Geburt dagegen kommt es zu einer moderaten SAA – Konzentrationserhöhung, wahrscheinlich ausgelöst durch den Gewebeschaden während des Geburtsvorgangs (NUNOKAWA et al., 1993; COUTINHO DA SILVA et al., 2013). COUTINHO DA SILVA et al. (2013) konnten nach der Geburt (12 bzw. 36 hr *post partum*) SAA – Konzentrationen von 62 bis 189 mg/l messen.

Während bei der Studie von COUTINHO DA SILVA et al. (2013) die Konzentration von SAA 60 hr nach der Geburt den Ausgangswert erreichte, lag das SAA bei NUNOKAWA et al. (1993) erst nach circa 1 Monat wieder im Referenzbereich.

Insgesamt machen diese Eigenschaften das SAA zu einem idealen Marker für das frühe Erkennen von Entzündungen und für das Monitoring einer Behandlung (*real time monitoring*) (JACOBSEN und ANDERSEN, 2007).

4.2. Messmethoden für SAA

Für die Messung von SAA wurden im Laufe der Jahre einige Methoden entwickelt, inklusive eines ELISA (SATO et al., 1994; HULTEN et al., 1999b; POLLOCK et al., 2005), eines einfachen Radialimmunodiffusionstests (NUNOKAWA et al., 1993), eines Elektroimmunoassays (PEPYS et al., 1989; CHAVATTE et al., 1992) und eines immunoturbidimetrischen Latex – Agglutinations – Assays (STONEMAM et al., 2001; VANDENPLAS et al., 2005). JACOBSEN und ANDERSEN (2007) wiesen in ihrer Arbeit darauf hin, dass durch die Verwendung von verschiedenen Messmethoden die SAA – Konzentrationen nicht direkt vergleichbar sind und es daher in verschiedenen Studien zu Unterschieden bei den Referenzwerten kommen kann.

Die Tab. 3 enthält eine Übersicht der verschiedenen Messmethoden und die daraus resultierenden Referenzwerte. Zusätzlich sind die Referenzwerte von SAA in

Abhängigkeit des Alters der Pferde angegeben.

Tabelle 3:

Referenzwerte von SAA in Abhängigkeit von Messverfahren, Autor und Alter der Pferde, Angaben in Mittelwert bzw. Medianwert () und Standardabweichung.*

Testsystem	Alter der Pferde	Referenzwert	Autoren
Elektroimmuno – assay	Vollblüter mit 2 Jahren oder älter	Nicht nachweisbar	PEPYS et al., 1989
	Neonatale Fohlen	0 U/l (0 – 20 U/l)	CHAVATTE et al., 1992
Einfacher Radialimmuno – Diffusionstest	≤12Monaten	19, 4 ± 9,4 µg/ml	NUNOKAWA et al., 1993
	≥18 Monate	21,5 ± 9,8 µg/ml	
	Durchschnittswert	19,7 ± 9,6 µg/ml	
Enzyme – linked immunosorbent – Assay (ELISA)	≤ 12Monaten	21,2 ± 12,2 µg/ml	SATO et al., 1995
	≥ 18 Monate	14,9 ± 9,1 µg/ml	
	Adulte Pferde	< 7 mg/l	HULTEN et al., 1999b
	≤ 12 Monate	0,2 ± 0,1 µg/ml	POLLOCK et al., 2005
	1 – 4 Jahre	0,2 ± 0,1 µg/ml	
	> 4 Jahre	0,1 ± 0,1 µg/ml	
Immuno – turbidimetrischer Latex – Agglutinations – assay	Neonatale Fohlen	1. Tag: 0,9 mg/l* 2. Tag: 4,0 mg/l* 3. Tag: 2,5 mg/l*	STONEHAM et al., 2001
	Adulte Tiere	4,5 ± 11,4 µg/ml	VANDENPLAS et al., 2005

4.3. Aufgaben von SAA

Die präzise Rolle von SAA ist noch nicht eindeutig geklärt (JACOBSEN und ANDERSEN, 2007).

Das in der Leber produzierte SAA gelangt in die Blutzirkulation und wirkt

systemisch, während das extrahepatisches SAA an Ort und Stelle verbleibt und mit den umgebenden Zellen über Rezeptoren interagiert (YE und SUN, 2015).

Das SAA wirkt im Gewebe chemotaktisch auf Phagozyten und lockt so Leukozyten, Monozyten, Mastzellen, polymorphkernige Zellen und T – Zellen in den entzündeten Bereich. Damit trägt es zu einer Verstärkung der lokalen Entzündung bei (BADOLATO et al., 1994; UHLAR und WHITEHEAD, 1999; CRISMAN et al., 2008; EKLUND et al., 2012). Es konnte gezeigt werden, dass diese Aktivität von SAA durch einen bestimmten Rezeptor, den *formyl peptide receptor 2* (FPR2), welcher auf den Entzündungszellen vorhanden ist, vermittelt wird (SU et al., 1999; YE und SUN, 2015). Mit der Stimulation von SAA reagieren diese Zellen mit weiteren zellulären Aktivitäten, wie beispielsweise der Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF – κ B (SODIN – SEMRL et al., 2004). Dieser Transkriptionsfaktor ist ein wichtiger Schlüsselfaktor des angeborenen und adaptiven Immunsystems und dient als ein zentraler Mediator für Entzündungsreaktionen (Induktion von proinflammatorischen Zytokinen, Aktivierung und Differenzierung von T – Zellen) (LIU et al., 2017).

Das SAA ist in der Lage, die Leukozyten zu beeinflussen, indem es deren Funktionen, wie den *respiratory burst* (Freisetzung von reaktiven Sauerstoffspezies durch Leukozyten bei der Phagozytose) und die Phagozytoseaktivität, sowohl zu hemmen als auch zu fördern vermag (GATT et al., 1998; BADOLATO et al., 2000; JACOBSEN und ANDERSEN, 2007).

Dem SAA werden auch zytokinähnliche Eigenschaften zugeschrieben, da es die Synthese von Zytokinen, wie den IL – 1, IL – 1ra, IL – 6 und dem TNF – α , induziert (PATEL et al., 1998; PRECIADO – PATT et al., 1998; UHLAR und WHITEHEAD, 1999; YE und SUN, 2015). Die Synthese von Zytokinen wird unter anderem durch die Bindung von SAA an die *toll – like* Rezeptoren (TLR) vermittelt, welche wiederum zu einer gesteigerten Expression der Zytokine führt (CHENG et al., 2008; YE und SUN, 2015).

Das SAA kann mittels des *outer membrane protein A* (OmpA) an eine große Anzahl gramnegativer Bakterien, wie den *Escherichia coli* (*E. coli*), binden und wirkt somit als Opsonin für neutrophile Granulozyten und Makrophagen. Damit unterstützt das SAA eine schnelle Eliminierung der Keime (HARI – DASS et al., 2005). Ähnlich dem LBP kann auch dieses APP die LPS von Bakterien binden (SCHROEDL et al.,

2001; GRUYS et al., 2005).

Als immunmodulatorischer Effekt ist die Induktion von Enzymen (wie Kollagenasen und Matrix – Metalloproteinasen) durch das SAA zu nennen, welche die extrazelluläre Matrix abbauen und für Reparaturprozesse nach einem Gewebeschaden von großer Bedeutung sind (UHLAR und WHITEHEAD, 1999; VALLON et al., 2001; JACOBSEN und ANDERSEN, 2007).

Während einer Entzündung bindet das freigesetzte SAA an HDL und greift damit in den Cholesterintransport ein. Zum einen wird Cholesterin, welches für die Regeneration von geschädigtem Gewebe benötigt wird, zu den Entzündungsgebieten transportiert, zum anderen wird die Beseitigung von freigesetztem Cholesterin aus zerstörtem Gewebe gefördert (GONNERMAN et al., 1996; LINDHORST et al., 1997).

Bei Mäusen wurde beobachtet, dass das SAA das durch das IL – 1 und den TNF – α induzierte Fieber hemmen kann. Dies scheint auf eine Rückkopplungsbeziehung zwischen dem SAA und den immunregulatorischen Zytokinen zu basieren. IL – 1 und TNF – α verursachen über die Induktion der Prostaglandin – E₂ Synthese im Hypothalamus Fieber (SHANKIN – KESTENBAUM et al., 1991; UHLAR und WHITEHEAD, 1999). Das SAA kann als weitere antiinflammatorische Funktion die Thrombozytenaggregation hemmen. ZIMLICHMAN et al. (1990) konnten in ihrer Studie nachweisen, dass das SAA die Thrombin – induzierte Aggregation von Thrombozyten verhindern kann. Hierbei unterdrückt das SAA die Bildung von Thromboxan, ein Prostaglandin, welches die Aggregation von Thrombozyten über Rezeptoren aktiviert. Das SAA induziert auch die Freisetzung von Zytokinen, wie IL – 10 und das IL – 1 α , welche eine antiinflammatorische Wirkung haben (CHENG et al., 2008; YE und SUN, 2015).

Das SAA, welches extrahepatisch im Darm durch die Stimulation von IL – 1 β , IL – 6 und TNF – α produziert wird, hat dort lokale Abwehrfunktion gegen Endotoxine (VREUGDENHIL et al., 1999; MURATA et al., 2004). Es wird angenommen, dass die im Kolostrum gefundene Isoform von SAA, das sog. Milchdrüsen – assoziierte SAA3 (M – SAA3), günstige Auswirkungen auf das säugende Neugeborene (Adaption an das extrauterine Leben) hat und einen möglicherweise pflegenden Effekt für die Milchdrüse aufweist (MCDONALD et al., 2001; MURATA et al., 2004). Das M – SAA3 kann die Gewebereparatur fördern und so zum Schutz des

Magen – Darm – Traktes der Neugeborenen vor früh im Leben auftretenden Krankheitserregern beitragen (MCDONALD et al., 2001). Beim Menschen und bei der Kuh konnten das LPS und Prolaktin als Stimulatoren für erhöhte SAA – Konzentrationen in der Milchdrüse nachgewiesen werden (LARSON et al., 2003; LARSON et al., 2005; DUGGAN et al., 2007).

Das im Gelenk produzierte SAA scheint zum Entzündungsprozess und zu der Zerstörung des Knorpels beizutragen, indem es als Chemoattraktor für Leukozyten wirkt, die Bildung von Cyclooxygenase – Metaboliten (Enzyme für die Prostaglandinsynthese) induziert und die Metalloproteinase – Aktivität steigert (BADOLATO et al., 1994; MALLE et al., 1997; VALLON et al., 2001; O'HARA et al., 2004; JACOBSEN et al., 2006a).

4.4. Produktion von SAA

Während der APR wird das SAA hauptsächlich in der Leber von den Hepatozyten produziert (hepatische APR), aber auch extrahepatische Produktionsorte von SAA sind bekannt (MCDONALD et al., 2001; UPRAGARIN et al., 2005; JACOBSEN et al., 2006a). Während die Isoformen SAA 1 und SAA 2 vor allem in der Leber synthetisiert werden, konnte eine transkriptionale Expression von SAA 3 in verschiedenen extrahepatischen Geweben nachgewiesen werden (RAMADORI et al., 1985; MEEK und BENDITT, 1986; BENDITT und MEEK, 1989; MEEK et al., 1992; RYGG et al., 1993; HUSBY et al., 1994; MARHAUG et al., 1997; MCDONALD et al., 2001).

MCDONALD et al. (2001) konnten als erste zeigen, dass die Produktion von SAA in der Milchdrüse nicht mit einem pathologischen oder entzündlichen Prozess in Verbindung steht, sondern dass das M – SAA3 bei gesunden Tieren (Pferden, Schafen und Rindern) physiologisch im Kolostrum vorhanden ist. Innerhalb von 4 Tagen nach der Geburt konnte ein Absinken der Konzentration von M – SAA3 in der Milch festgestellt werden (UPRAGARIN et al., 2005).

JACOBSEN et al. (2006a) konnten wiederum als erste in den Gelenken bei Pferden mit einer experimentell induzierten Arthritis eine lokale Produktion von SAA aufzeigen. Es konnten 2 alkalische Isoformen (pI 10,0 und 10,2) von SAA in der Synovia isoliert werden, welche sich von den systemischen Formen des SAA im

Serum deutlich unterschieden und im Serum nicht nachgewiesen werden konnten.

In der folgenden Tab. 4 sind die extrahepatischen Produktionsorte von SAA nach BERG et al. (2011) gelistet. Im Vergleich zu der Leber werden in den Zellen der genannten Organe mehr als 1% (wie Lunge, Uterus) oder weniger als 1% (wie Herz, Niere) SAA mRNA exprimiert.

Tabelle 4:

Extrahepatische Produktionsorte von SAA. Modifiziert nach BERG et al. (2011).

	> 1% der hepatischen Expression	< 1% der hepatischen Expression
SAA mRNA Expression	Lunge Milchdrüse Pankreas Synovialmembran Thymus Schilddrüse Uterus	Fettgewebe Nebenniere Aorta Gehirn Verschiedene Darmabschnitte Herz Niere Lymphknoten, Ovar Hoden Prostata Skelett/Herz – Muskel Haut Milz

Auch das Auge, insbesondere das Kammerwasser und der Glaskörper, scheint das SAA zu produzieren, welches die Blut – Augen – Schranke nicht passieren kann (LABELLE et al., 2011; WALDNER, 2017).

4.5. Klinische Anwendung von SAA

Insgesamt kann das SAA als ein sehr zuverlässiger Indikator für Entzündung und Infektion gesehen werden und hat im Vergleich zu den herkömmlichen Entzündungsparametern wie den Gesamtleukozyten und dem Fb, welche standardmäßig in vielen Kliniken bestimmt werden, viele Vorteile. Mit seinen Eigenschaften ist das SAA für das frühe Entdecken einer entzündlichen Situation im Organismus, das Überwachen einer Therapie (*real time monitoring*) und für die Prognose einer Erkrankung von großem diagnostischem Wert (JACOBSEN und ANDERSEN, 2007; BELGRAVE et al., 2013).

Eine Konzentrationserhöhung von SAA im Serum kann auf verschiedene Weise entstehen. In der folgenden Tab. 5 ist eine Übersicht der vielfältigen Ursachen aufgezeigt.

Tabelle 5:

Erkrankungen und mögliche Ursachen für eine Konzentrationserhöhung von SAA beim Pferd. Modifiziert nach JACOBSEN und ANDERSEN (2007).

Erkrankung	Beschreibung	Literaturangabe
Orthopädie	Experimentell induzierte aseptische Arthritis	HULTEN et al., 1999b HULTEN et al., 2002 JACOBSEN et al., 2006b JACOBSEN et al., 2006c
	Natürlich erworbene infektiöse Arthritis	PEPYS et al., 1989 JACOBSEN et al., 2006a
Lokale Entzündung	Intramuskuläre Injektion von Terpentinöl	NUNOKAWA et al., 1993
Chirurgische Eingriffe	Laparotomie	NUNOKAWA et al., 1993
	Verschiedene Eingriffe	PEPYS et al., 1989 POLLOCK et al., 2005
	Kastration	HULTEN et al., 1999b JACOBSEN et al., 2005
Bakterielle Infektion	Sepsis beim Fohlen	CHAVATTE et al., 1992 STONEHAM et al., 2001 HULTEN und DEMMERS, 2002
	Rhodococcus equi – Pneumonie	CHAVATTE et al., 1992 HULTEN und DEMMERS, 2002
	Lokale Infektion (Abszesse, infektiöse Arthritis) beim Fohlen	STONEHAM et al., 2001
Virale Infektionen	Equines Herpes Virus – 1 (EHV – 1) beim Fohlen	CHAVATTE et al., 1992 PEPYS et al., 1989 HULTEN und DEMMERS, 2002

	EHV – 1 bei Pferden	PEPYS et al., 1989
	Equines Influenza Virus (EIV)	HULTEN et al., 1999a HULTEN et al., 1999b
Gastrointestinale Erkrankungen	Diarrhoe und Enteritis beim Fohlen	NUNOKAWA et al., 1993
	Kolik	NUNOKAWA et al., 1993 VANDENPLAS et al., 2005
Nichtinfektiöse neonatale Erkrankungen	Lebensschwäche Prä maturität neonatales Fehlanpassungssyndrom Geburtstraumen Mekoniumsverhalten	CHAVATTE et al., 1992
Reproduktions – Erkrankungen	Septische Aborte	HUSEBEKK et al., 1986
	Geburt	PEPYS et al., 1989 NUNOKAWA et al., 1993 GRUYS et al., 2005
	Trächtigkeit	NUNOKAWA et al., 1993
	Aborte unbekannter Ätiologie	NUNOKAWA et al., 1993
Training	Rennen (Langstrecke)	EROL et al., 2015/2016 NOLEN – WALSTON, 2015
Impfungen	Impfungen gegen das Equine Influenza Virus und das Tetanus – Toxin	ANDERSEN et al., 2012
	Intranasale Impfung gegen das Equine Herpes Virus	DUMRATH, 2017

Die SAA – Konzentration ist bei elektiven Eingriffen (wie Kastrationen) deutlich geringer als bei nicht – elektiven Eingriffen (wie Kolikoperationen, Verletzungen) und die Konzentrationshöhe von SAA kann verschiedene Stufen von chirurgischen Gewebetraumen (abhängig vom Grad der Invasivität) darstellen (JACOBSEN et al., 2009). Eine Vollnarkose hat nach PEPYS et al. (1989) keinen Einfluss auf die SAA – Konzentration.

Die Auswirkungen der Kastration für den Verlauf von SAA wurde von verschiedenen Autoren untersucht und dargestellt (PEPYS et al., 1989; NUNOKAWA et al., 1993). Dieser elektive Eingriff, welcher in dieser Studie für die Validierung des Schnellmessgerätes verwendet wurde, lässt das SAA in seiner Konzentration circa 6 hr *postoperativ* ansteigen und erreicht nach circa 48 hr einen Peak. Wenn die Rekonvaleszenzphase ohne Komplikationen erfolgt, sinkt der Entzündungswert nach 8 Tagen (JACOBSEN et al., 2005) bzw. innerhalb von 3 Wochen wieder auf seinen Ausgangswert (NUNOKAWA et al., 1993).

Trotz aller Vorteile, die SAA gegenüber den herkömmlichen Entzündungsmarkern hat, ist dieser Marker dennoch unspezifisch und nicht für eine ätiologische Diagnostik zu nutzen. Die Zytokine, welche für die Synthese des APP verantwortlich sind, werden von den entzündeten oder verletzten Gewebszellen ausgeschüttet, unabhängig von der zugrunde liegenden Ursache (JACOBSEN und ANDERSEN, 2007).

In den folgenden Punkten werden verschiedene Bereiche der Pferdemedizin dargestellt, in welchen das SAA als Laborparameter seinen Einsatz findet.

4.5.1. SAA bei Infektionskrankheiten

Fieber, Inappetenz und Apathie sind oft Symptome einer Infektion bei Pferden, mit welchen Tierärzte in der Praxis konfrontiert werden. Die Unterscheidung zwischen einer bakteriellen und viralen Infektion anhand der klinischen Symptome ist aber meist nicht eindeutig und der Tierarzt steht vor der Frage, ob der Einsatz eines Antibiotikums sinnvoll ist. Als schnell reagierendes APP stellt das SAA hier einen wichtigen diagnostischen Parameter dar. Es konnte festgestellt werden, dass das SAA bei einer bakteriellen Infektion meist einen deutlich höheren Konzentrationsanstieg erfährt als bei einem Virusinfekt (PEPYS et al., 1989; HULTEN et al., 1999b; CHAVATTE et al., 1992; STONEHAM et al., 2001; JACOBSEN und ANDERSEN, 2007; CRISMAN et al., 2008; SATUÉ et al., 2013). Siehe dazu auch Punkt 1.1. im Literaturteil.

HOBO et al. (2007) konnten in ihrer Arbeit zeigen, dass die Konzentration von SAA bei induzierter Pneumonie mit *Streptococcus equi zooepidemicus* rasch anstieg und nach 72 hr ihren Peak erreichte. Mit Abklingen der klinischen

Symptome fiel parallel dazu die SAA – Konzentration und offenbarte damit deutliche Vorteile gegenüber dem Fb in der Beurteilung der Therapie mit bakteriellen Pneumonien. In dieser Studie lagen die Konzentrationen von SAA dabei über 600 µg/ml. Andere Autoren berichten von Serumkonzentrationen von über 2000 mg/l bei bakteriellen Infektionen (JACOBSEN und ANDERSEN, 2007; SATUÉ et al., 2013).

Bei Pferden, welche akut mit dem Equinen Influenzavirus (EIV) infiziert waren, konnte in der akuten Phase der Krankheit mit der Ausbildung der klinischen Symptome (Fieber, Nasenausfluss und Husten) ebenfalls eine SAA – Konzentrationserhöhung festgestellt werden. Die Höhe der SAA – Serum – Konzentration nach 48 hr lag hier bei allen Pferden deutlich oberhalb des Referenzbereichs, aber unterhalb von 500 mg/l (HULTEN et al., 1999a). Weiter konnte in der Studie von HULTEN et al. (1999a) festgestellt werden, dass nach circa 11 bis 22 Tagen die Konzentration von SAA wieder innerhalb ihres Referenzbereichs lag. Folglich würden also SAA – Konzentrationen oberhalb des Referenzbereiches in diesem Zeitraum Hinweise auf eine hochgradige Influenza – Virusinfektion, mögliche Sekundärinfektion (meist bakteriellen Ursprungs) oder einen erheblichen Gewebeschaden aufgrund einer anderen Ursache (wie Tumore) geben. Daher ist es sinnvoll, auch den Genesungsverlauf mittels dieses schnell reagierenden APP zu kontrollieren, um so gegebenenfalls schnell mit einer neu angepassten Therapie reagieren zu können.

Diese Studien zeigten beispielhaft, dass das SAA als Hilfsmittel zur Unterscheidung zwischen viraler und bakterieller Infektion dienen kann (HULTEN et al., 1999a; HOBBO et al., 2007; VINER et al., 2017). Dennoch ist eine präzise Klassifizierung von Infektionskrankheiten (viral – bakteriell) nur mittels der Konzentration von SAA nicht möglich.

Einige Infektionen, wie Sinusitiden, können meist nicht eine systemische Entzündungsantwort und damit eine APR induzieren. Grund dafür kann eine Absonderung der Infektion, zum Beispiel innerhalb des Sinus, sein (BELGRAVE et al., 2013). Eine Konzentrationserhöhung von SAA ist davon abhängig, ob der gesamte Organismus in die Entzündung miteinbezogen ist oder ob der Körper den lokalen Entzündungsherd isolieren kann.

Die routinemäßige Bestimmung von SAA kann bei der Überwachung der

Herdengesundheit, auf Turnieren, bei Transporten (Fahrtauglichkeit) oder bei der Ausbreitung von infektiösen Krankheiten ein wichtiges Hilfsmittel sein (PEPYS et al., 1989; JACOBSEN und ANDERSEN, 2007). Bei Pferden, welche nur in Kontakt mit Erregern wie dem Equinen Herpes Virus (EHV) oder dem Druse – Erreger (*Streptococcus equi equi*) kamen, aber sich dabei nicht infizierten, konnte keine Konzentrationserhöhung von SAA ermittelt werden (PEPYS et al., 1989; JACOBSEN und ANDERSEN, 2007). In diesen Fällen sind Schnelltests von enormen Vorteil gegenüber der Diagnostik im Labor, da diese vor Ort, in kurzer Zeit und mit wenig Aufwand durchgeführt werden können und so bei einer Differenzierung zwischen infizierten und nicht – infizierten Tieren helfen könnten.

4.5.2. SAA in der Fohlenmedizin

Zunächst ist in diesem Zusammenhang der Einfluss des Alters des Pferdes auf die SAA – Konzentration im Blut erwähnenswert. Bei Neugeborenen erfährt dieses APP einen deutlichen Anstieg nach der Geburt. Gründe dafür könnten der Gewebeschaden (Trennung der Plazenta vom Endometrium, Ruptur der Fruchtblase und des Nabelstranges), welcher durch den Geburtsvorgang am Fohlen entsteht, und die Aufnahme von Immunglobulinen durch das Kolostrum sein (NUNOKAWA et al., 1993; SATOH et al., 1995; STONEHAM et al., 2001; DUGGAN et al., 2007; PALTRINIERI et al., 2008). STONEHAM et al. (2001) gaben weiter als Grund für eine postnatale Erhöhung von SAA eine prophylaktische Injektion von Antibiotika oder Tetanusserum am 1. Tag an. Im Gegensatz dazu konnten andere Autoren keine erhöhten SAA – Werte bei 2 Wochen alten Fohlen nachweisen (CHAVATTE et al., 1992; POLLOCK et al., 2005). Insgesamt müssen also bei Erhöhungen von SAA im unteren Konzentrationsbereich beim Fohlen verschiedene Faktoren, wie der Geburtsvorgang oder prophylaktische Injektionen, beachtet und in die Beurteilung des SAA – Wertes miteinbezogen werden.

Generell ist das klinische Bild einer Erkrankung vor allem bei Neugeborenen aber auch älteren Fohlen sehr unspezifisch und die Diagnose – Stellung mit Schwierigkeiten verbunden (SATUÉ et al., 2013). Aber gerade in der Fohlenmedizin ist eine schnelle Diagnose und eine angemessene Behandlung mit Überwachung des Erfolges, insbesondere bei Infektionskrankheiten, sehr essentiell (STONEHAM et al., 2001; HULTEN et al., 2002b). Hierbei kann das *major* APP

SAA, welches schnell auf Veränderungen jeglicher Art (Infektionen, Gewebetraumen, effektive antibiotische Therapie etc.) reagiert, von großem Nutzen sein. STONEHAM et al. (2001) suggerierten eine Ergänzung des Sepsis – Scores von BREWER und KOTERBA (1988) mit den SAA – Werten, da die Höhe von SAA einen entscheidenden Beitrag zur Unterscheidung von nicht – infektiösen, infektiösen und septikämischen Fohlen lieferte. Mit den SAA – Konzentrationen konnte eine Differenzierung von Fohlen dahingehend durchgeführt werden, ob sie gesund waren, an einer lokalen Infektion, einer nicht – infektiösen Krankheit oder an einer Septikämie erkrankt waren. Lokale Abszesse, wie ein abgegrenzter Nabelabszess, sind von niedrigen bis nicht messbaren SAA – Werten im Serum begleitet. Es wird vermutet, dass der entzündliche Stimulus durch die Abszesswand abgehalten wird und somit keine hepatische SAA – Synthese auslöst wird (STONEHAM et al., 2001; JACOBSEN und ANDERSEN, 2007). In der folgenden Tab. 6 werden aus der Studie von STONEHAM et al. (2001) Medianwerte von SAA aufgezeigt, welche verschiedene klinische Situationen darstellen. Die Autoren hielten eine SAA – Konzentration von 100 mg/l für den Grenzwert, welcher eine mögliche Infektion beim neonatalen Fohlen anzeigt.

Tabelle 6:

Medianwerte von SAA – Konzentrationen beim Fohlen. Modifiziert nach STONEHAM et al. (2001).

SAA – Mittelwerte	Status des Fohlens
2,2 mg/l	Gesundes Fohlen
3,1 mg/l	Fohlen mit nicht – infektiöser Erkrankung
195 mg/l	Fohlen mit lokaler Infektion
279,9 mg/l	Fohlen mit Septikämie
> 100 mg/l	Fohlen, welches auf eine mögliche infektiöse Erkrankung reagiert

Auch HULTEN und DEMMERS (2002) konnten in ihrer Studie den hohen Stellenwert von SAA im Vergleich zu anderen Blutparametern (Gesamtleukozyten, Neutrophile Granulozyten und Fb) belegen. Die Höhe der SAA – Konzentration gab einen verlässlichen Hinweis auf die Art der Erkrankung der Fohlen, während anderen Entzündungsparameter oft zu unklaren Aussagen führten (Tab. 7).

Tabelle 7:

*SAA, Fb, Gesamtleukozyten und Neutrophile Granulozyten bei Fohlen mit bakterieller Infektion (n = 8) und nicht – bakteriellen Infektionen bzw. bei unklarer Diagnose (inklusive unklarer Blutkultur und Virusinfektionen). Es sind die Medianwerte angegeben. * = nicht statistisch signifikant. Modifiziert nach HULTEN und DEMMERS (2002).*

Erkrankung	SAA mg/l	Fb g/l	Gesamt – leukozyten 10⁹/l	Neutrophile Granulozyten 10⁹/l
Bakterielle Infektion	65 (3,2 – 199)	6,6 (0,8 – 12,2)	16,6 * (1,3 – 45,1)	13,4 * (0,3 – 39)
Nicht – bakterielle Infektionen bzw. unklare Diagnose	1,6 (0,5 – 148)	3,5 (1,8 – 7,5)	8,8 * (2,2 – 21,5)	6,2 * (0,5 – 19,6)

Die Studie konnte zeigen, dass die Konzentrationen der APP bei bakteriellen Infektionen deutlich höher waren als bei nicht – bakteriellen Infektionen, während die Veränderungen der Gesamtleukozyten und neutrophilen Granulozyten statistisch nicht signifikant waren. Lebensschwache Fohlen, welche eine negative Blutkultur aufwiesen, zeigten SAA – und Fb – Werte im Referenzbereich, während die Werte der Gesamtleukozyten und neutrophilen Granulozyten variierten. Bei einer positiven Blutkultur war bei allen Fohlen nur das SAA deutlich erhöht, während die restlichen 3 Entzündungswerte sowohl erhöht als auch erniedrigt waren. Eine moderate bis deutliche SAA – Erhöhung war bei einer fraglichen Blutkultur sichtbar, während das Fb, die Gesamtleukozyten und neutrophile Granulozyten im Referenzbereich blieben (HULTEN und DEMMERS, 2002).

Der diagnostische Wert von SAA in Bezug auf die respiratorische Erkrankung von Fohlen mit *Rh. equi* ist kritisch zu betrachten. Diese bakterielle Infektion der Atemwege betrifft meist Fohlen in den ersten Lebensmonaten und manifestiert sich als pyogranulomatöse Entzündung in Form von Bronchopneumonien, Enteritiden und seltener als Bakteriämie (CHAFFIN et al., 2003; FLAMINIO et al., 2009). Diese verlustreiche Fohlenerkrankung bedarf intensiver Therapie und die frühestmögliche Diagnostizierung der Infektion ist von entscheidender Bedeutung für das Überleben der einzelnen Fohlen und des gesamten Bestandes in einem Betrieb. HULTEN und DEMMERS (2002) konnten bei Fohlen, welche mit diesem Bakterium infiziert waren, erhöhte SAA – Konzentrationen im Blut messen und ein

paralleles Absinken der Konzentration bei einer erfolgreichen Therapie feststellen. In der Studie von COHEN et al. (2005) wurde untersucht, ob Fohlen, welche eine *Rh. equi* – Infektion entwickeln würden, eine signifikant höhere SAA – Konzentration aufwiesen als nicht betroffene Fohlen. Dabei wurde deutlich, dass eine 2 – monatliche SAA – Messung nicht als diagnostischer Parameter für die Früherkennung der Infektion geeignet war. Hierzu ist kritisch anzumerken, dass die Intervalle für die Messung (alle 2 Monate) dieses sehr schnell reagierenden APP zu lange gewesen sein könnten. Sind jedoch klinische Anzeichen für eine *Rh. equi* – Infektion vorhanden, konnten SAA – Messungen sowohl den Grad der Krankheit akkurat beurteilen als auch den Erfolg der Therapie überprüfen (*real time monitoring*) (HULTEN und DEMMERS, 2002; PASSAMONTI et al., 2015).

Nicht – infektiöse Ursachen für lebensschwache Fohlen, wie die gestörte Aufnahme von Immunglobulinen, Prä – oder Dysmaturie, das Fohlenfehlانpassungssyndrom, die Isoerythrolyse oder das Mekoniumverhalten, sind mit einem geringen Konzentrationsanstieg von Serum – SAA verbunden (CHAVATTE et al., 1992; CRISMAN et al., 2008). Doch hier lagen zum Teil die SAA – Konzentrationen auch im Referenzbereich (STONEHAM et al., 2001; HULTEN und DEMMERS, 2002; CRISMAN et al., 2008). Als mögliche Ursache für diese Unterschiede könnten die verschiedenen Messmethoden für das SAA und auch die deutlich variierenden Referenzwerte in der Literatur sein (CRISMAN et al., 2008). Insgesamt ist allgemein anerkannt, dass die SAA – Bestimmung den Messungen der herkömmlichen Entzündungsmarker, wie den Gesamtleukozyten und dem Fb, deutlich überlegen war, vor allem in der Unterscheidung von infektiösen und nicht – infektiösen Erkrankungen des *systemic inflammatory response syndrome* (SIRS) (CRISMAN et a., 2008).

Das schnellreagierende SAA scheint vor allem in der Fohlenmedizin ein wertvoller diagnostischer Parameter zu sein. Durch die zahlreichen vorangegangenen Studien stehen Grenzwerte von SAA zur Verfügung, welche wichtige Entscheidungshilfen für die Behandlung von Fohlen darstellen können.

4.5.3. SAA in der Orthopädie

Auch in der Orthopädie stellt das SAA im Vergleich zu den Gesamtleukozyten, neutrophilen Granulozyten und dem Gesamteiweiß einen sehr sensiblen Parameter

bei Entzündungen dar, vor allem in der Differenzierung von aseptischen und septischen Arthritiden und Tendosynovitiden (ROBINSON et al., 2017). Oft sind die klinischen Erscheinungsbilder und die herkömmlichen Analysen der Gelenksflüssigkeit (makroskopische Analyse, Leukozyten und Gesamteiweiß) nicht eindeutig, um die Art der Gelenkentzündung sicher zu differenzieren (TULAMO et al., 1989; LAPOINTE et al., 1992; BERTONE, 1999; MCILWRAITH et al., 2001; STEEL, 2008), was jedoch für die Form der Behandlung eines Gelenkes essentiell ist und die Prognose für das Pferd hinsichtlich des Überlebens und der reiterlichen Nutzung stark beeinflusst. Vor allem eine frühe Diagnose und eine darauf abgestimmte Behandlung ist wichtig, um den Knorpelschaden und eine Osteoarthritis zu vermeiden (LUDWIG et al., 2016). Nur 56 – 81% der Pferde kehren nach einer septischen Gelenkentzündung wieder zu ihrer ursprünglichen Leistungsform zurück (SCHNEIDER et al., 1992; WRIGHT et al., 2003).

Bei einer nicht – infektiösen Arthritis induziert durch Amphotericin B konnte eine APR ausgelöst und eine Erhöhung von SAA im Serum gemessen werden. Die SAA – Konzentration stieg nach 16 hr an und erreichte ihren Maximalwert nach 36 – 48 hr mit einer 227fachen Erhöhung (Maximalwert von SAA: 163 mg/l; SD \pm 73) im Vergleich zum Ausgangswert (HULTEN et al., 2002a). Auch JACOBSEN et al. (2006c) konnten einen Peak von SAA im Blut und in der Synovia der betroffenen Gelenke 48 hr nach intraartikulären LPS – Injektionen feststellen. Sie konnten nachweisen, dass die APR sowohl systemisch als auch in den Gelenken von der LPS – Dosis abhängt.

Zu der erhöhten SAA – Konzentration im Gelenk tragen 2 Produktionsorte bei: zum einen die Hepatozyten (systemisch ausgelöste hepatische APR) und zum anderen die im Gelenk befindlichen Chondrozyten und das Synovialgewebe (extrahepatische APR). In der Synovia konnten 2 SAA – Isoformen mit unterschiedlichen pI im Vergleich zu den Isoformen des Serums isoliert werden (siehe dazu auch Punkt 4.1. und 4.4. im Literaturteil). Somit befinden sich in der Synovia der Pferde die 3 Isoformen der hepatischen APR und die beiden Isoformen der extrahepatischen APR (JACOBSEN et al., 2006c).

ROBINSON et al. (2017) bewiesen in ihrer Arbeit, dass mit Hilfe von Serum – und Synovia – SAA zwischen einem septischen und einem nicht – septischen Gelenk unterschieden werden kann. Als Schwellenwert für ein septisches Gelenk gaben sie

für das SAA im Serum 61 µg/ml und in der Synovia 1,1 µg/ml an. Insgesamt muss aber auch immer der Gesamtzustand des Pferdes bei solchen Werten beachtet und miteinbezogen werden. Neben Gelenkverletzungen können zusätzliche Gewebetraumata oder Weichteilverletzungen an anderen Körperbereichen eine hepatische APR induzieren und so zu der Gesamtkonzentration von SAA im Serum beitragen, welche dann zu einem falsch positiven Ergebnis (septisches Gelenk) führen könnte. Die Kontamination der Synovia mit Blut ist auch kritisch zu betrachten, da hier ebenfalls eine fälschlich erhöhte Konzentration von SAA aus dem Serum das Ergebnis sein könnte (ROBINSON et al., 2017).

Bei wiederholter Entnahme von Synovia im Verlauf einer Therapie hat das SAA einen entscheidenden Vorteil gegenüber den Leukozyten und dem Gesamtprotein. Die beiden Letztgenannten werden durch die Synoviozentese stark beeinflusst (Anstieg innerhalb von 4 hr) und verfälschen so bei mehrmaliger Gelenkspunktion die Beurteilung der Synovia (JACOBSEN et al., 2006a; NOLEN – WALSTON, 2015; ANDREASSEN et al., 2017). Die Synovia – Konzentration von SAA steigt dagegen auch durch wiederholtes Punktieren, einer intraartikulären Medikamentenapplikation (wie Kochsalzlösung/Amikazin), einer Gelenksspülung oder arthroskopischen Gelenksspülung nicht an (JACOBSEN et al., 2006a/c; SANCHEZ – TERAN et al., 2012/2016; ROBINSON et al., 2017).

ROBINSON et al. (2017) und LUDWIG et al. (2016) haben in ihren Studien festgestellt, dass das SAA im Serum (24 hr *post infectionem*) deutlich früher zu steigen begann als in der Gelenksflüssigkeit (36 hr *post infectionem*) des infizierten Gelenks und zusätzlich die Konzentration im Blut höher war als im Gelenk. LUDWIG et al. (2016) gaben daher der Messung von SAA aus dem Serum einen deutlich höheren Stellenwert als aus der Synovia. Eine Blutabnahme sei bei jeglicher Art von Gelenksverletzung möglich und die Gefahr einer Gelenksinfektion durch die Synoviozentese sei damit nicht gegeben.

4.5.4. SAA in der Kolikmedizin

Die Hauptschwierigkeit bei Pferden mit Kolik, welche in eine Klinik eingeliefert werden, ist die Frage nach der Ursache der Kolik und der Notwendigkeit für eine chirurgische Therapie (NOLEN – WALSTON, 2015). Vor allem die Kategorisierung in konservative oder chirurgische Behandlung ist wichtig, da eine

frühe chirurgische Therapie, wenn sie denn notwendig ist, die Prognose für die Pferde deutlich verbessert (PIHL et al., 2016). Ein schnell reagierendes APP, welches in kurzer Zeit auf jegliche Art einer Entzündung oder eines Gewebeschadens reagiert, könnte behilflich sein, diese Fragen zu klären.

In der Literatur wird die Aussagekraft von SAA zu diesem Spektrum der Pferdemedizin sehr unterschiedlich diskutiert. WESTERMAN et al. (2016) und PIHL et al. (2016) konnten in ihren Studien zeigen, dass mit der Messung von SAA eine Optimierung in der Differenzierung zwischen konservativer oder chirurgischer Therapie erzielt werden kann.

Entzündliche Kolikformen (Enteritis, Colitis, Peritonitis, Abdominale Abszesse) weisen eine deutlich höhere SAA – Konzentration auf als nicht – entzündliche (VANDENPLAS et al., 2005; PIHL et al., 2013; WESTERMAN et al., 2016). Als Schwellenwert wurde eine SAA – Konzentration von $>50 \mu\text{g/ml}$ genannt (VANDENPLAS et al., 2005).

Eine Unterscheidung zwischen strangulierenden und nicht – strangulierenden Kolikformen konnte mit Hilfe der SAA – Konzentration nicht erfolgen (DANIEL et al., 2016). Koliken mit Strangulationen des Darms verlaufen in der Regel sehr schnell. Die fehlende Zeit für die Ausbildung einer systemischen APR könnte ein Grund für die normalen Serumkonzentrationen von SAA sein. Zusätzlich sind die nekrotischen Darmbereiche von der zentralen Blutversorgung oft abgetrennt und die freigesetzten Zytokine können nicht direkt eine hepatische APR induzieren. Auch das lokal im Darm produzierte SAA gelangt durch die Abschnürung nicht in den zentralen Blutkreislauf und ist somit im Serum nicht messbar.

VANDENPLAS et al. (2005) konnten in ihrer Studie einen Zusammenhang zwischen der Höhe der SAA – Serumkonzentration und der Prognose aufzeigen. Als Schwellenwert nannten die Autoren die Konzentration von $50 \mu\text{g/ml}$. Lag die SAA – Konzentration über diesem Wert, so wurde die Prognose für das Überleben der Patienten als schlecht eingeschätzt. DONDI et al. (2015) konnten dagegen den prognostischen Wert von SAA nicht bestätigen. Die Autoren nannten als Ursache für dieses Ergebnis die niedrige Spezifität des SAA.

Es muss berücksichtigt werden, dass die Dauer der Kolik positiv mit den Konzentrationen von SAA korreliert. Daher ist der Zeitpunkt der Messung von SAA im Verlauf der Kolikerkrankung entscheidend (PIHL et al., 2015).

Auf Grund des akuten Verlaufes von Koliken und der Notwendigkeit schneller Entscheidungen, ist es nötig, einen Marker zu haben, welcher diagnostisch sinnvoll ist, vor Ort in kurzer Zeit gemessen werden kann und preisgünstig ist (KJELGAARD – HANSEN und JACOBSEN, 2011; PIHL et al., 2016). Daher sind Schnellmessgeräte eine diagnostisch wertvolle Hilfe für Tierärzte im Stall und in der Klinik, um Pferde mit Kolik besser einschätzen zu können.

4.5.5. SAA in der Reproduktionsmedizin

Mit den Studien über das Verhalten der SAA – Konzentration in der Trächtigkeit, der Geburt und nach dem Geburtsvorgang können Abweichungen der SAA – Konzentrationen in diesen Zeiträumen, ausgelöst durch Entzündungen, sehr gut eingeschätzt werden (NUNOKAWA et al., 1993; DA SILVA et al., 2013; CANISSO et al., 2014; CANISSO et al., 2015).

Erkrankungen der Plazenta haben für die trächtige Stute oft den Verlust des Fohlens und für den Züchter möglicherweise eine hohe finanzielle Belastung zur Folge. Als häufigste Ursache ist die bakterielle Plazentitis (90%) zu nennen (HONG et al., 1993), wobei sich die Diagnose auf die klinischen Symptome, wie Vaginalausfluss, frühzeitige Euteranbildung und verfrühte Laktation, und den transrektalen Ultraschall stützt (TROEDSSON und ZENT, 2004; TROEDSSON und MACPHERSON, 2011; CANISSO et al., 2015). Mehrere Autoren haben für das frühzeitige Stellen der Diagnose verschiedene Blutparameter untersucht. Das SAA schien ein sensitiver Marker für Entzündungen der Plazenta zu sein (CANISSO et al., 2012a, CANISSO et al., 2012b, CANISSO et al., 2013; BALL et al., 2013; CANISSO et al., 2015). Experimentell induzierte, bakterielle Plazentiden verursachten eine deutliche Konzentrationserhöhung von SAA im Serum, wohingegen das Fb und die Gesamtleukozyten keinen empfindlichen Parameter darstellten (DA SILVA et al., 2013; CANISSO et al., 2014; CANISSO et al., 2015). Nach der intrazervikalen Inokulation von Bakterien (*Streptococcus equi zooepidemicus*) konnte bei Stuten im letzten Drittel der Trächtigkeit innerhalb von 4 (DA SILVA et al., 2013) beziehungsweise (bzw.) 2 Tagen (CANISSO et al., 2014) ein Anstieg der SAA – Konzentration gemessen werden. Ein Abort trat vor allem bei den Stuten auf, welche in der Studie keine Behandlung (Antibiotika, Antiphlogistika und Progestin) erhielten. Dagegen konnte der SAA –

Konzentrationsanstieg bei infizierten Stuten (bei 6 von 9 Stuten, 66,6%) mit einer Behandlung verhindert werden und meist war die Geburt eines gesunden Fohlens die Folge. Während eine intrauterine Inokulation einer moderaten Dosis von *E. coli* (10^5 colony forming unit, CFU) keine systemische APR und somit keine Konzentrationserhöhung von SAA zur Folge (CHRISTOFFERSEN et al., 2012), konnte bei einer intrauterinen Infusion von 10^9 CFU *E. coli* eine Erhöhung der SAA – Werte nachgewiesen werden (CHRISTOFFERSEN et al., 2010). Die sog. *persistent mating induced endometritis* (PMIE), ausgelöst durch den Samen der Hengste, Samenbestandteile oder Pathogene, schien 24 hr nach der Besamung keine systemische APR mit einem SAA – Konzentrationsanstieg zu induzieren (NASH et al., 2010). Bei der Bestimmung der Rosse oder Trächtigkeit kann die SAA – Konzentrationsmessung nicht genutzt werden (SATUÉ et al., 2013).

4.5.6. SAA im Training

Sowohl im Profi – als auch im Amateurbereich des Pferdesports ist die Gesundheit der Pferde ein wichtiger Faktor. Im Rennpferdesport wird die körperliche Verfassung der Pferde routinemäßig mittels der Herzfrequenz und einer Blutanalyse, welche unter anderen den Hämatokrit, die Erythrozyten, den Hb – Gehalt und die Keratinkinase beinhaltet, überwacht (SZARSKA, 2003; FIELDING et al., 2009; CYWINSKA et al., 2010). Eine klinische Allgemeinuntersuchung durch den Tierarzt soll vor den Rennen sicherstellen, dass die Pferde bereit für die Rennen sind (CYWINSKA et al., 2010). Subklinische Erkrankungen oder Übertraining, welche für den Tierarzt und für die herkömmlichen Untersuchungen oft nicht eindeutig diagnostizierbar sind, können sich im Verlauf von Training oder Rennen durch die massive Belastung verschlimmern.

Das SAA als sensibler Parameter für Entzündungen jeglicher Art scheint einen zuverlässigen Marker für die Beurteilung des Gesundheitszustandes von Pferden darzustellen und die Überwachung der Pferde könnte durch die Konzentrationsmessung dieses APP verbessert werden (TURLO et al., 2016).

Verschiedene Autoren untersuchten die Auswirkung von verschiedenen Längen von Rennstrecken auf die APR im Pferd (CYWINSKA et al., 2008; CYWINSKA et al., 2010; KRISTENSEN et al., 2014; TURLO et al., 2016). CYWINSKA et al. (2012) (34 bis 60 km Renndistanz) und KRISTENSEN et al. (2014) (1600 bis

2500 m Renndistanz) konnten keine Erhöhung der SAA – Konzentration bei diesen Distanzen feststellen. TURLO et al. (2016) fanden dagegen bei kurzen Rennstrecken eine geringgradige Erhöhung der SAA – Konzentration, diese lag aber meist innerhalb des Referenzbereiches (Medianwert 3,8 mg/l, Bereich 2,3 – 8,9 mg/l).

Im Gegensatz dazu konnten bei Distanzpferden, welche Langstreckenrennen (120 oder 160 km Renndistanz) bestritten, deutliche (mehr als 10fache) Konzentrationserhöhungen von SAA nachgewiesen werden (CYWINSKA et al., 2012). Als Ursache für diese belastungsbedingte APR nach diesen langen Distanzen wurden Muskelverletzungen gesehen, welche in der Humanmedizin bei Läufern nach Rennen diagnostiziert wurden (FALLON, 2001; CYWINSKA et al., 2010).

In einer Studie von CYWINSKA et al. (2010) konnte der SAA – Wert bei 66,6% der Pferde vor einem Rennen anzeigen, ob die Pferde das Rennen beenden oder ausscheiden würden. Keines der Pferde, welches eine SAA – Konzentration von mehr als 1000 ng/ml aufwies, konnte die komplette Distanz laufen.

Insgesamt kann die Messung der SAA – Konzentration eine sinnvolle Ergänzung für die tägliche Gesundheitskontrolle, für die Kontrolle des Trainings und für die medizinische Untersuchung der Pferde vor Rennen oder anderen Wettbewerben sein, um subklinische Erkrankungen oder Übertraining zu identifizieren (CYWINSKA et al., 2010; NOLEN – WALSTON, 2015). Die Schnellmessgeräte für das SAA erlauben ein sofortiges Ergebnis vor Ort und sind mit einem geringen Kostenaufwand verbunden ist.

4.5.7. SAA und Neoplasien

Eine erhöhte Plasma – Konzentration von SAA kann auch bei tumorösen Erkrankungen beobachtet werden (CRAY et al., 2009). Dies kann zum einem durch die von dem Tumor hervorgerufene Entzündung und dem Gewebeschaden verursacht werden (WEINSTEIN et al., 1984). Es zeigte sich jedoch auch, dass einige Tumorgewebe in der Lage sind das SAA zu exprimieren. In der Humanmedizin konnte diese Expression bei Darmkrebs, Eierstockkrebs und verschiedenen histologischen Formen von Gebärmutterkrebs nachgewiesen werden (GUTFELD et al., 2006; COCCO et al., 2009; COCCO et al., 2010; URIELI –

SHOVAL et al., 2010). Über einen Rezeptor – vermittelten Mechanismus erlangt das Tumorgewebe durch die Expression von SAA mRNA und dem SAA einen Vorteil gegenüber dem Immunsystem des Wirtsorganismus. Das vom Tumor freigesetzte SAA bindet an den Rezeptor FPR2 von neutrophilen Granulozyten, welche darauf das IL – 10 produzieren. Dieses IL – 10 unterdrückt die T – Zell – Immunität und verschafft somit den Tumorzellen Vorteile (DE SANTO et al., 2010; MOSHKOVSKII, 2012).

In einer Studie von MIGLIO et al. (2019) wurden 4 Pferde mit verschiedenen Formen von Lymphomen (1) T – Zell Lymphom im Darm, 2) B – Zell Lymphom in der Milz, 3) peripheres T – Zell Lymphom, 4) T – Zell reiches B – Zell Lymphom am 3. Augenlid) klinisch und histologisch untersucht. Bei drei Pferden konnte eine erhöhte SAA – Konzentration festgestellt (SAA – Konzentration: 1) 492,1 mg/l; 3) 32 mg/l; 4) 27,9 mg/l). Einzig das Pferd mit dem Lymphom in der Milz zeigte nach dem Referenzbereich (0,5 – 20 mg/L) in dieser Studie keine erhöhten SAA – Werte (10,3 mg/l).

Abschließend kann festgestellt werden, dass die Plasma – Konzentration von SAA bei tumorösen Prozessen steigen kann. Dabei kann die Höhe der Konzentration im Blut eine begrenzte Aussage über das Tumorstadium machen. Mit der Diagnosestellung eines Tumors korrelierten niedrige SAA – Werte mit einer verbesserten Prognose für das Überleben des Patienten (BIRAN et al., 1986). Insgesamt stellt das SAA einen allemal unspezifischen Tumor – Marker da (MALLE et al., 2009).

5. Hintergrund und Fragestellung der wissenschaftlichen Arbeit

Aus der umfangreichen Literaturübersicht ergibt sich, dass das SAA eines der wichtigsten APP beim Pferd ist. Entzündliche Reize verursachen einen raschen Anstieg der SAA – Konzentration um das 1000fache. Durch die kurze HWZ von SAA fällt dieses bei einer erfolgreichen Behandlung parallel dazu und ist somit ein wichtiger diagnostischer Parameter in der Pferdemedizin und im Besonderen in der Überwachung der Rekonvaleszenzphase. Da die positiven Eigenschaften von SAA durch das Einsenden von Proben in ein externes Labor zum großen Teil verloren gehen, wäre ein Test zur Bestimmung dieses APP vor Ort ein großer Vorteil.

Das Ziel der vorliegenden Studie ist die Validierung eines mobilen Schnellmessgerätes für das SAA, dem EquiChek™ – SAA. Dazu werden die Ergebnisse des EquiChek™ – SAA mit den Ergebnissen einer etablierten Messung im Labor (ELISA) verglichen und es wird die Korrelation der beiden Methoden bestimmt. Zusätzlich soll bestimmt werden, ob das Schnellmessgerät (Prädiktor) die Ergebnisse der Labormethode (Kriterium) vorhersagen kann.

Weiter soll anhand der Beprobung der Pferde mittels dem EquiChek™ – SAA in einer Klinik die Praktikabilität und Einsetzbarkeit des Schnellmessgerätes untersucht werden.

Schlussendlich wird mit Hilfe der Literatur der Messbereich des EquiChek™ – SAA kritisch begutachtet.

6. Hypothesen

Es wird die Hypothese getestet, ob eine gute Korrelation zwischen den Ergebnissen der SAA – Konzentration des mobilen EquiChek™ – SAA und des im Labor verwendeten ELISA besteht (siehe Diskussion, Punkt 3.1.1).

Außerdem soll die Hypothese getestet werden, ob der EquiChek™ – SAA als Prädiktor für den Laborwert (ELISA) als Kriterium fungiert (siehe Diskussion, Punkt 3.1.2.)

III. MATERIAL UND METHODEN

1. Tiere

Das Patientengut stammte aus der Pferdeklinik Bieberstein, Thierlstein, in Cham. Die Untersuchungen wurden an den in dem Zeitraum der Studie zufällig in die Klinik für Pferde eingelieferten Pferden durchgeführt. Insgesamt wurden 48 Pferde untersucht, wobei es sich bei den Pferden um Hengste handelte, welche in der hiesigen Klinik kastriert wurden. Bei der stationären Aufnahme der Hengste in die Klinik wurde das Einverständnis der Besitzer für die Untersuchung und Blutabnahme für diese Studie eingeholt. Die Pferde gehörten unterschiedlichen Altersgruppen (von 1 bis 13 Jahren) an, wobei das Durchschnittsalter 3,4 Jahre ($SD \pm 2,0$, Medianwert = 3 Jahre) betrug. Bei den Pferden handelt es sich um gesunde Pferde verschiedener Rassen. Das Patientengut beinhaltete Shetlandponys (3), Araber (5), Isländer (7), Haflinger (1), deutsche Reitponys (2), Quarter Horses (4), Warmblüter (16), Pinto (4), Andalusier (1), Knabstrupper (1) und Kaltblüter (2 Noriker, 1 Percheron, 1 süddeutsches Kaltblut).

Um für den elektiven Eingriff der Kastration zugelassen zu werden, wurden die Hengste einer klinischen Allgemeinuntersuchung unterzogen. Alle 48 Hengste wurden für die Studie zugelassen. Keiner der Hengste musste aufgrund von Vorerkrankungen, klinischen schwerwiegenden Erkrankungen oder anderen Ursachen (z.B. Schwierigkeiten im Umgang) ausgeschlossen werden. Bei allen Hengsten waren beide Hoden abgestiegen und zeigten keine pathologischen Veränderungen. Es wurden nur Pferde in die vorliegende Studie aufgenommen, welche in der Pferdeklinik Bieberstein einer Kastration unterzogen wurden.

Die Entnahme der Proben erstreckte sich von Mai 2014 bis Mai 2015.

Während ihres Aufenthalts wurden die Hengste in den Klinikboxen der Pferdeklinik Bieberstein gehalten. Als Einstreu erhielten die Tiere Stroh oder Sägespäne. Als Futter bekamen sie 3mal täglich Heu und je nach Anweisung der Besitzer ein Mischfutter oder Pellets morgens und abends verabreicht. Es bestand freier Zugang zu einer Selbsttränke oder es wurden Wassereimer bereitgestellt, falls die Pferde die Selbsttränke nicht gewohnt waren. Orale Medikamente wurden den Pferden mit einer Maulspritze oder über das Kraftfutter verabreicht. Den Hengsten

wurde einen Tag vor der Kastration, am Tag dieser und einen Tag nach dieser eine systemische Antibiose verabreicht. Sie bekamen Procain – Penicillin (15000 I.U./kg Körpergewicht (KG), 1x täglich, Bela – pharm, Vechta, Deutschland) intramuskulär oder falls eine bekannte Penicillin – Unverträglichkeit vorhanden war, Sulfadiazin und Trimethoprim (25 mg/kg KG Sulfadiazin und 5 mg/kg KG Trimethoprim, 2x täglich, über mindestens 7 Tage; Medistar, Ascheberg, Deutschland) oral. Zusätzlich erhielten die Pferde am Tag der Operation entweder Phenylbutazon (2,2 mg/kg KG, CP – Pharma, Burgdorf, Deutschland) oder Flunixin meglumin (1,1 mg/kg KG, CP – Pharma, Burgdorf, Deutschland) über den venösen Zugang. Der jeweilige Schlachtstatus des Pferdes bestimmte die Wahl der Antiphlogistika. Die antiphlogistische und analgetische Medikation wurde für weitere 5 Tage über eine orale Applikation fortgesetzt.

2. Chirurgische Methode der Kastration

Nach der vorausgegangenen Allgemeinuntersuchung der Hengste wurden diesen ein Venenverweilkatheter (Braunüle MT, 4/G12, B Braun, Melsungen AG, Hessen, Deutschland) in die *Vena jugularis externa* geschoben und mit dem Faden Polysorb (Lactomer 9 – 1, USP 3 – 0, 2 Metric, Covidien Deutschland GmbH, Medtronic Company, Neustadt/Donau, Deutschland) befestigt. Als Prämedikation in der Ablegebox wurden den Hengsten Xylazin (0,2 mg/kg KG, Xylavet, CP – Pharma, Burgdorf, Deutschland) verabreicht, bis der gewünschte Zustand der Sedation erreicht war. Zum Ablegen wurde den Hengsten eine Kombination aus Ketamin (2,0 mg/kg KG, Ketamin 10%, Medistar, Ascheberg, Deutschland) und Diazepam (0,05 mg/kg KG, Rotexmedica, Trittau, Deutschland) in den Venenverweilkatheter gegeben. Das Ablegen erfolgte kontrolliert zwischen einer festen und einer mobilen Wand.

Die Kastration erfolgte durch 2 Chirurgen der Pferdeklinik Bieberstein unter allgemeiner Anästhesie. Während der Operation erfolgte über einen Trachealtubus nach RÜSCH (Eichmeyer, Tuttlingen, Deutschland) eine Inhalationsnarkose mit einem Gemisch von Sauerstoff, Isofluran (Isofluran CP, CP – Pharma Handelsgesellschaft mbH, Burgdorf, Deutschland) und Stickstoffmonoxid (Eichstetter GmbH, Ziefeling – Bierl, Cham).

Alle Pferde wurden in Rückenlage bedeckt kastriert, angelehnt an die Methode, welche bei SEARLE et al. (1999) beschrieben wurde.

Parallel zur *Raphe scroti* wurde ein circa 3 Zentimeter langer Schnitt mit dem Skalpell durchgeführt, wobei die Haut des Skrotums, die *Tunica dartos*, die *Fascia speramtica externa* und *interna* durchtrennt wurden. Der Hoden wurde zusammen mit der *Lamina parietalis* der *Tunica vaginalis* (*Processus vaginalis*) von der *Fascia spermatica interna* mit einem Tupfer (Vlieskompresse, Nobatop 8, Nobamed Paul Danz AG, Wetter/Ruhr, Deutschland) gelöst, sodass der *Musculus cremaster* und die *Lamina parietalis* freigelegt waren. Der Emaskulator nach SAND (Eickemeyer – Medizintechnik für Tierärzte KG, Tuttlingen, Deutschland) wurde um die so gut zugänglichen Strukturen angesetzt und diese wurden für 10 Sekunden gequetscht. Danach erfolgte eine Ligatur mit dem Faden SyntheSorb (Polyglycolic Acid, USP 5, Metric 7, Vömel, Kronberg, Deutschland). Zum Hoden hin erfolgte ein weiteres Abquetschen der Strukturen mit dem Emaskulator, wobei distal davon der Hoden mit dem Skalpell absetzt wurde. Bei dem 2. Hoden erfolgte das Vorgehen über den gleichen Zugang und auf die gleiche Art. Das Skrotum wurde mit einem Polysorb (Lactomer 9 – 1, USP 3 – 0, 2 Metric, Covidien Deutschland GmbH, Medronic Company, Neustadt/Donau, Deutschland) über eine fortlaufende Naht (Kürschnernaht) verschlossen. Danach wurden die Pferde in eine gepolsterte Aufwachbox abgelegt und der Trachealtubus gezogen, sobald das Pferd geschluckt hat. Die Aufstehphase fand unter Sichtkontrolle statt.

3. Klinische Untersuchung der Pferde

Die Pferde wurden vor und 22 bis 26 hr nach der Kastration einer klinischen Allgemeinuntersuchung unterzogen. Die Herzfrequenz wurde mittels eines Stethoskops im Bereich der *Regio cubiti* auskultiert. Die Atemfrequenz wurde ermittelt, in dem man die Atembewegung an dem Brustkorb und an der Flanke zählte. Die Schläge des Herzens und die Atembewegung des Brustkorbes wurden für 15 Sekunden gezählt und anschließend mit 4 multipliziert. Daraus ergab sich die Herzfrequenz bzw. Atemfrequenz pro Minute. Zusätzlich wurden noch die beiden Lungenflügel mittels eines Stethoskops abgehört und auf inspiratorische und expiratorische Atemgeräusche und pathologische Befunde geachtet. Die innere Körpertemperatur wurde mittels eines digitalen Thermometers (VT 1831, microlife

AG, Widnau, Schweiz) rektal in Grad Celsius (°C) gemessen. Über Palpation wurden die *Lymphonodi (Lnn.) mandibulares* auf ihre Größe, Form, Verschieblichkeit und Schmerzhaftigkeit überprüft. Die *Lnn. mandibulares* sollten physiologisch haselnußgroß, weich, gelappt, verschieblich und nicht schmerzhaft sein (WISSDORF et al., 2002). Davon abweichende Befunde wurden als pathologisch eingestuft.

4. Probengewinnung

Im Rahmen der klinischen Allgemeinuntersuchung wurden für die Studie Blutproben genommen. Dies erfolgte sowohl vor der Kastration als auch 22 bis 26 hr nach der Kastration. Nach lokaler Desinfektion der Haut mit Alkohol wurden von der *Vena jugularis externa* mittels dem BD Vacutainer® SST™ II Advance Röhrchen (Becton Dickinson Diagnostic Praenalytical Systems, Heidelberg, Deutschland) Serum und mittels einer Einmalspritze Vollblut gewonnen. Das BD SST™ II Advance Röhrchen enthält Silikapartikel als Gerinnungsaktivator und das inerte Gel dient als Diffusionsbarriere zwischen Serum und Blutkuchen.

Hengsten, welche bei der Untersuchung vor der Kastration einen hohen SAA – Wert mittels der EquiChek™ – SAA Methoden aufwiesen, wurden zusätzlich noch Blut mit den BD Vacutainer® EDTA (Ethylen – Diamin – Tetra – Essigsäure) – Röhrchen abgenommen. Zusätzlich wurden von 13 weiteren Pferden vor und nach der Kastration Blut mit den BD Vacutainer® EDTA – Röhrchen genommen. Die Blutröhrchen enthalten K₂ EDTA (Ethylendiamintetraessigsäure, 1,8 mg/ml) als Antikoagulans und dienten der Ermittlung der Gesamtleukozytenzahl und des Fb im Labor der Pferdeklinik Bieberstein.

5. Probenaufbereitung

Die vom Hersteller empfohlene Mindestzeit von 30 Minuten für die Gerinnung des Blutes in den BD Vacutainer® SST™ II Advance Röhrchen erfolgte im klinikeigenen Labor. Danach folgte die Zentrifugation bei 3000 Umdrehungen für 5 Minuten, wobei sich das Serum vom Blutkuchen absetzte und sich so das Serum mittels

Pipette in Serumtransport – Röhrchen überführen ließ. Die Serumproben wurden unmittelbar danach bei -20°C eingefroren und bis zur weiteren Verarbeitung im Labor gelagert.

Das Vollblut in den Spritzen wurde sofort nach der Abnahme mittels dem EquiChekTM – SAA untersucht.

Das EDTA – Blut wurde ebenfalls nach der Abnahme im klinikeigenen Labor untersucht. Hierbei wurden die Gesamtleukozytenzahl und das Fb bestimmt.

6. Laboruntersuchung

6.1. EquiChekTM – SAA

Unmittelbar nach der Abnahme der Vollblutproben zu beiden Zeitpunkten wurde die SAA – Messung mittels dem EquiChekTM – SAA durchgeführt.

Dem EquiChekTM – SAA liegt das Prinzip eines kompetitiven *Lateral Flow Tests* (LFT) zugrunde, einer Mischung aus Dünnschichtchromatographie und Immunfärbung. In diesem Test ist das Signal umgekehrt proportional zu der SAA – Konzentration in der Probe. Diese Form von LFT wurde entwickelt, um den Hook – Effekt zu vermeiden.

Der Hook – Effekt tritt ein, wenn ein Teststreifen mit einem Analyten überladen wird und somit nicht genügend farbmarkierte AK vorhanden sind, um den Analyten zu binden. Der nicht farbmarkierte Analyt wandert schneller über die Test – Membran als die farbmarkierten Komplexe (Analyt und farbmarkierte AK) und besetzt somit zuerst alle Bindungsstellen auf den Linien im Testfenster. Für die farbmarkierten Komplexe ist somit keine Bindungsstelle der Testlinien mehr frei und somit kann kein farblohes Signal erzeugt werden. Dies führt zu einem falsch negativen Testergebnis (REY et al., 2017).

Der komplette Aufbau des EquiChekTM – SAA befindet sich in einem Plastikgebäude und basiert auf einer Trägerkarte (*Backing Card*). Die Streifen enthalten 4 Hauptkomponenten. Das Pad des Probefensters besteht aus Cellulose, dessen Funktion darin besteht, die Probenflüssigkeit in Richtung der anderen

Komponenten des LFT zu transportieren. Mittels eines Applikators (Abb. 2) werden 5 µl der Probenflüssigkeit, in dieser Studie Blut, auf diese Oberfläche gebracht.

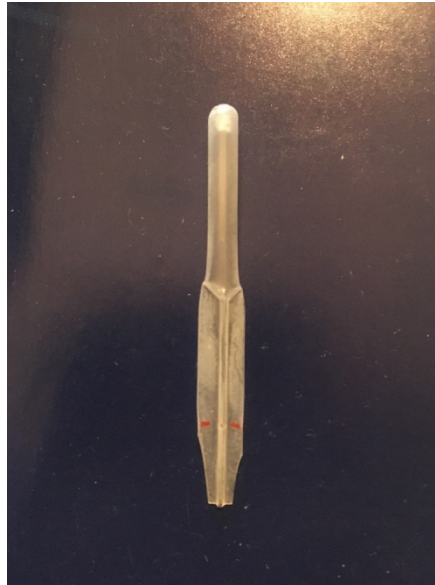


Abbildung 2:

Darstellung des Applikators zum Auftragen des Blutes auf das Probenfenster des EquiChekTM – SAA.

Zusätzlich werden noch 3 Tropfen einer physiologischen Kochsalzlösung zu dem Vollblut in das Probenfenster getropft. Diese dient als Laufmittel und gewährleistet eine bessere Fließgeschwindigkeit über das Ergebnisfeld.

Das folgende Konjugatpad enthält monoklonale AK (MAK – G), welche mit Goldpartikel markiert sind, um das nachzuweisenden SAA (den Analyten) spezifisch zu erkennen und binden.

Auf Grund von Kapillarkräften wandert die Probenflüssigkeit auf der Nitrocellulosemembran weiter zum Testpad. Auf diesem Teil des Pads sind 4 Linien angebracht. Die ersten 3 Linien, die Test – Linien, enthalten fixierte SAA – Proteine. Die 4. Linie stellt die Kontroll – Linie dar und enthält fixierte Liganden welche die MAK – G binden können und somit einen ordnungsgemäßen Ablauf der Reaktion signalisieren.

Am Ende des Konjugatpads befindet sich das Absorptionspad. Es dient als eine Art

Auffangbecken und verhindert den Rückfluss von Probenmaterial.

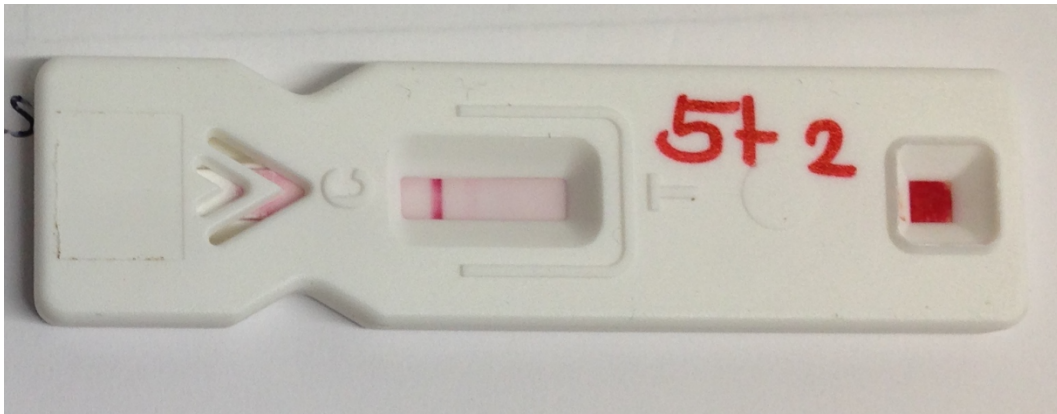
Bei dem EquiChek™ – SAA läuft die Reaktion wie folgt ab: Die MAK – G können bei diesem Format entweder das in der Vollblutprobe vorhandene SAA oder das auf den T – Linien fixierte SAA binden, da sie nur eine Bindungsstelle (Epitop) für SAA aufweisen. Weist die Vollblutprobe kein SAA auf, können die MAK – G ungehindert an das SAA auf den Testlinien und ebenso die Liganden auf der Kontrolllinie binden und damit einen Farbumschlag der Linien hervorrufen. Es entstehen 4 rote Linien auf dem Testpad des EquiChek™ – SAA (Abb. 3).



Abbildung 3:

Darstellung des EquiChek™ – SAA bei einem gesunden Pferd mit 4 Linien auf dem Testpad.

Wenn das SAA in der Vollblutprobe eine hohe Konzentration hat, bindet das SAA in dem Konjugatpad die vorhandenen MAK – G. Dieser Komplex (SAA – MAK – G) kann nun nicht mehr an den T – Linien binden, da das Epitop für das SAA der MAK – G besetzt ist, und somit bindet der Komplex nur an der Kontrolllinie. Es erscheint 1 Linie auf dem Testpad (Abb. 4).

**Abbildung 4:**

Darstellung des EquiChek™ – SAA bei einem Pferd mit klinisch signifikanter Entzündung und somit 1 Linie auf dem Testpad.

Je nach Konzentration von SAA in der Vollblutprobe sind noch ungebundenen MAK – G im Testfenster vorhanden. Diese können an das fixierte SAA auf den Testlinien binden und zeigen so Konzentrationsunterschiede an.

Bei einem gesunden Pferd erscheinen 4 Linien auf dem Testpad und laut dem Hersteller handelt es sich um eine SAA – Konzentration von unter 25 mg/l. Bei einer milden bzw. milden bis moderaten Entzündung sind 3 bzw. 2 Linien zu sehen und die SAA Konzentrationen betragen 25 – 75 mg/l bzw. 75 – 200 mg/l. Bei einer Linie auf dem Testfenster liegt die SAA – Konzentration bei über 200 mg/l und der EquiChek™ – SAA zeigt eine klinisch signifikante Entzündung an. Als Übersicht dient die Tab. 8. Zusätzlich gibt die Farbintensität der Linien noch Auskunft über die SAA – Konzentration in der Vollblutprobe. Sollte die SAA – Konzentration an der Grenze von 200 mg/l sein, ist die 2. Linie sehr schwach, aber sichtbar und die Kontrolllinie zeigt einen sehr deutlichen Farbumschlag.

Tabelle 8:

Übersicht über die Linien des EquiChek™ – SAA und ihren SAA – Konzentrationen laut dem Hersteller.

EquiChek™ – SAA	SAA – Konzentrationen
4 Linien	< 25 mg/l
3 Linien	25 – 75 mg/l
2 Linien	75 – 200 mg/l
1 Linie	> 200 mg/l

Sind auf dem Testfenster weder Testlinien noch die Kontrolllinie zu sehen, ist der EquiChek™ – SAA ungültig.

Nach insgesamt 10 Minuten kann das Ergebnis des EquiChek™ – SAA abgelesen werden. Die Linien bleiben auch danach noch sichtbar, verblassen aber in ihrer Farbintensität.

Die genaue Zusammensetzung und Bezeichnung der verwendeten AK, welche bei dem Schnelltest EquiChek™ – SAA verwendet werden, wird vom Hersteller nicht bekannt gegeben. Daher konnte nur die grobe Beschreibung des Ablaufes des EquiChek™ – SAA beschrieben werden.

Im Zuge der Probenerhebung wurde auch die Praktikabilität und sinnvolle Einsetzbarkeit des EquiChek™ – SAA getestet. Hier wurde vor allem darauf geachtet, ob der Schnelltest im Stall bzw. in der Klinik am Pferd durchgeführt werden kann, und die Handhabung des EquiChek™ – SAA beurteilt.

6.2. Der Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Die Serumproben wurden im gefrorenen Zustand für die Bestimmung der SAA – Konzentration an das Labor der Maynooth Universität (Accuplex Diagnostik GmbH, Kildare, Irland) verschickt. Die Proben wurden mit zufälligen Zahlen kodiert, sodass nicht nachvollzogen werden konnte, welche Probe zu welchem Zeitpunkt und von welchem Pferd entnommen wurde. Hier wurde für die Bestimmung der SAA – Konzentration ein ELISA mit einem kommerziell hergestellten Kit (*Equine SAA, Tridelata Development Ltd., Bray, Ireland.*)

verwendet. Das Ergebnis der Platten des ELISAs wurde mittels eines Multiscans Multisoft Photometer (*BioTek Synergy HT*) abgelesen. Dieser ELISA wurde in der Publikation von POLLOCK et al. (2005) validiert.

Der ELISA ist ein *Sandwich Assay*, welcher 2 monoklonale AK gegen equines SAA benutzt, die fixierten AK auf der 96 – Loch Mikrotiterplatte und die mit Meerrettichperoxidase (HRP) markierten Detektor – AK. Zu den genauen Bezeichnungen der AK wurden vom Hersteller keine Informationen gegeben. Als Standard wurden equine Serumproben benutzt, welche aufbereitetes SAA enthielten und einen Konzentrationsbereich von 0 – 200 ng/ml aufwiesen. Der Auftrag der Serumproben erfolgte im Zweifachansatz. Die Serumproben wurden 1:1000 mit 0.05% phosphatgepufferter physiologischer Kochsalzlösung (PBS – *Tween*) verdünnt. Danach wurden 100 µl von der Probe auf der 96 – Loch Mikrotiterplatte aufgetragen. Die Platten wurden bei 37°C für 1 Stunde inkubiert und danach folgte 4maliges Waschen der Platten mit PBS – *Tween* (300 µl pro Vertiefung). Die restliche Waschflüssigkeit wurde abgeklopft und die HRP markierten Detektor - AK (100 µl pro Vertiefung) wurden auf die 96 – Loch Mikrotiterplatte aufgebracht. Im Anschluss erfolgte eine weitere Inkubation für 30 Minuten bei 37°C. Danach wurden die Platten mit PBS – *Tween* gewaschen und 100 µl pro Vertiefung der Substratlösung Tetramethylbenzidin (TMB) wurde für 10 Minuten auf die Platte aufgetragen. Das Abstoppen der Reaktion erfolgte mit der Zugabe von 100 µl Schwefelsäure pro Vertiefung. Unmittelbar danach wurde die optische Dichte der entstandenen Farblösung bei einer Messlänge von 450 nm in einem Photometer bestimmt.

Wenn eine Serumprobe die messbare Höchstgrenze des ELISA überschritten hat, wurde die Probe verdünnt und der Messvorgang fand erneut statt.

6.3. Messung der Gesamtleukozytenzahl

Bei 13 Pferden wurde zusätzlich zu SAA auch die Gesamtleukozytenzahl im Blut bestimmt. Die Zählung erfolgte unmittelbar nach der Blutabnahme im klinikeigenen Labor der Pferdeklinik Bieberstein. Hierzu wurde das Blut mit EDTA – Röhrchen entnommen. Die Leukozytenzählung erfolgte mit dem Leuko – TIC – System (Bioanalytic GmbH, Umkirch/Freiburg, Deutschland). Mittels einem *End – to – End* Kapillarröhrchen (20 µl, Bioanalytic GmbH, Umkirch/Freiburg,

Deutschland) wurde aus dem EDTA – Röhrchen selbstständig Blut gezogen. Das Kapillarröhrchen wurde dann in ein bereits mit Reagenz (Türk'sche Lösung, Kombination aus Essigsäure und Methylenblau, Bioanalytic GmbH, Umkirch/Freiburg, Deutschland) gefülltes Gefäß gegeben. Die Reagenzien hämolysieren die Erythrozyten und verhindern eine Blutgerinnung. Zusätzlich färben sie die Gesamtleukozyten an und führen so zu einer Hervorhebung dieser. Nach Verschluss des Gefäßes wurde dieses geschwenkt, bis das Blut vollständig aus dem Röhrchen in das Reagenz gelaufen ist. Danach wurde das Reagenzgefäß für mindestens 30 Sekunden stehen gelassen, bis die Hämolysen abgelaufen ist. Die Zählkammer wurde mit einem Deckgläschen abgedeckt. Mittels einer Kammerfüllkapillare (Bioanalytic GmbH, Umkirch/Freiburg, Deutschland;) wurde aus dem Reagenzgefäß das Blut – Reagenz – Gemisch durch Kapillarwirkung gezogen und in den Spalt zwischen Zählkammer und Deckgläschen gebracht. Das Gemisch wurde selbstständig in die Zählkammer hineingezogen. Die Zählkammer wurde auf den Kreutztisch des Mikroskops (Eickemeyer – Medizintechnik für Tierärzte KG, Tuttlingen, Deutschland) eingespannt und die Gesamtleukozyten wurden mäanderförmig in den 4 *Neubauer – improved* Zählkammern ausgezählt. Die jeweilige Anzahl der Gesamtleukozyten der 4 Eckquadranten wurden addiert und mit 50 multipliziert. Als Ergebnis erhält man die Gesamtleukozyten pro μl Blut.

Der Referenzbereich für die Gesamtleukozyten liegt beim Pferd zwischen 5 und 10 G/l (bzw. 5000 und 10000 Leukozyten pro μl Blut; $5 - 10 \times 10^3 \text{ WBC}/\mu\text{l}$) (DVG, 1982).

6.4. Fibrinogenmessung

Neben den Leukozyten wurde auch das Fb im klinikeigenen Labor bestimmt. Als Messmethode wurde die Hitze – Präzipitationsmethode von MILLAR et al. (1971) gewählt. Die Beprobung erfolgte in 2facher Ausführung. Aus dem EDTA – Blutröhrchen wurde mittels 4 Hämatokrit – Kapillaren (Servoprax GmbH, Wesel, Deutschland) Blut entnommen. Der Verschluss der Kapillaren erfolgte an einem Ende mit einem Versiegelungskitt (BRAND GMBH + CO KG, Wertheim, Deutschland). Die Röhrchen wurden bei 5000 Umdrehungen pro Minute für 3 Minuten zentrifugiert (Haematokrit, Hettich, Tuttlingen, Deutschland). Zwei der Röhrchen wurden nach Entnahme der Zentrifuge im Bereich des Plasmaspiegels

gebrochen und einzelne Tropfen des Plasmas wurden auf die Probefläche eines Handrefraktometers (Eickemeyer – Medizintechnik für Tierärzte KG, Tuttlingen, Deutschland) gebracht, um das Gesamteiweiß der Blutprobe zu bestimmen.

Die beiden anderen Röhrchen wurden unmittelbar nach der Zentrifugation für eine Minute in den Fb – Präzipitator (IDEXX Fb Präzipitator, Becton Dickinson & Co, Heidelberg, Deutschland) platziert. Hier erfolgte die Ausfällung des Fb bei 56°C. Danach erfolgte eine 2. Zentrifugation bei 5000 Umdrehungen pro Minute für 3 Minuten und eine erneute Bestimmung des Gesamteiweißes wurde durchgeführt. Die Differenz zwischen beiden Ergebnissen der Refraktormetermessung ergab die Fb – Konzentration in mg/dl.

Der Referenzbereich wurde nach JACOBSEN und ANDERSEN (2007) und CRISMAN et al. (2008) bei 200 bis 400 mg/dl festgelegt.

7. Statistische Auswertung und Darstellung der Ergebnisse

Die statistische Auswertung erfolgte mit der Statistiksoftware SPSS Version 25.0. Zunächst wurden die SAA – Konzentrationswerte, welche im Labor mittels ELISA gemessen wurden, in die Werte – Bereiche der Linien des EquiChek™ – SAA umgerechnet (Tab. 9). Damit konnten die beiden Messverfahren statistisch verglichen werden.

Tabelle 9:

Recodierung der Messergebnisse des ELISA in die Linien des EquiChek™ – SAA.

Konzentration der SAA – Konzentration (ELISA)	Recodierung in Linien des EquiChek™ – SAA
0 – 24 mg/l	4
25 – 75 mg/l	3
76 – 200 mg/ml	2
> 200 mg/l	1

Im nächsten Schritt wurden die Variablen deskriptiv betrachtet und jeweils Mittelwerte, Standardabweichungen, Medianwerte, Minima und Maxima berechnet.

Für die Berechnungen der nachfolgenden Tests (t – Test für abhängige Stichproben, Korrelation nach Bravais – Pearson, lineare Regression) der SAA – Konzentrationen ($n = 48$) und der Rektaltemperaturen ($n = 45$) konnte auf Grund des zentralen Grenzwertsatzes die Normalverteilung angenommen werden, da die Anzahl n größer als 30 war (KWAK und KIM, 2017).

Da die Konzentrationsmessungen der Gesamtleukozyten und der Fb – Werte nur bei 13 Pferden durchgeführt wurden, musste der Kolmogorov – Smirnov – Test klären, ob die Daten ebenfalls normalverteilt waren. Die Normalverteilung war nur bei der Messung der Gesamtleukozyten gegeben, daher wurde für die Berechnung der Mittelwertdifferenz von Fb der Wilcoxon – Test verwendet.

Die Mittelwertdifferenz für die SAA – Konzentrationen wurde für die beiden Zeitpunkte und für die beiden verschiedenen Messmethoden jeweils mit dem t – Test für abhängige Stichproben untersucht. Dieser Test wurde auch für die Berechnung der Mittelwertdifferenz der Gesamtleukozyten und der Rektaltemperaturen angewandt.

Für den Vergleich der beiden Messmethoden (EquiChekTM – SAA und ELISA) wurde die Korrelation nach Bravais – Pearson berechnet. Die Korrelation wurde zum einem mit den Werten vor der Kastration (niedrige SAA – Konzentrationen) und zum anderem mit den Werten nach der Kastration (hohe SAA – Konzentration) untersucht.

Um eine Aussage treffen zu können, ob der EquiChekTM – SAA ein signifikanter Prädiktor (Vorhersagewert, unabhängige Variable) für die Ergebnisse des ELISAs (Kriterium, abhängige Variable) darstellt, wurden 2 lineare Regressionen zu den beiden Zeitpunkten (vor und nach der Kastration) berechnet.

Das Signifikanzniveau wurde wie folgt festgelegt:

$p \geq 0,05$ nicht signifikant

$p < 0,05$ signifikant

$p < 0,001$ hochsignifikant

Alle Grafiken wurden mit Hilfe von SPSS erstellt.

IV. ERGEBNISSE

1. Klinische Untersuchung

An allen Hengsten, welche für die Kastration in der Klinik eingestellt wurden, wurden im Rahmen dieser Studie 2 klinische Allgemeinuntersuchungen durchgeführt. Diese fanden vor (am Tag vor der Operation oder am Tag der Kastration, t_1) und nach der Kastration (22 bis 26 hr nach der Operation, t_2) statt und wurden zum gleichen Zeitpunkt wie die Blutabnahmen durchgeführt. Die zu bestimmenden Parameter waren die Herzfrequenz, die Atemfrequenz, die innere Körpertemperatur, die Palpationsbefunde der *Lnn. mandibulares* und die Auskultationsbefunde der Lunge.

Bei allen in die Studie aufgenommenen Hengsten waren beide Hoden abgestiegen sowie adspektorisch und palpatorisch unauffällig

1.1. Herzfrequenz und Atemfrequenz

Die Herzfrequenz lag bei allen Pferden zum Zeitpunkt vor der Kastration im Mittel bei 40 Schlägen pro Minute ($SD_{t1} \pm 6,2$; Median = 36 Schläge pro Minute) und nach der Kastration bei 41 Schlägen pro Minute ($SD_{t2} \pm 6,7$; Median = 40 Schläge pro Minute).

Siebenundzwanzig Pferde (56,3%) hatten zum Zeitpunkt vor der Kastration eine Herzfrequenz von 28 bis 40 Schlägen pro Minute, welche somit im Referenzbereich von DIETZ und HUSKAMP et al. (1999) und WISSDORF et al. (2002) lag.

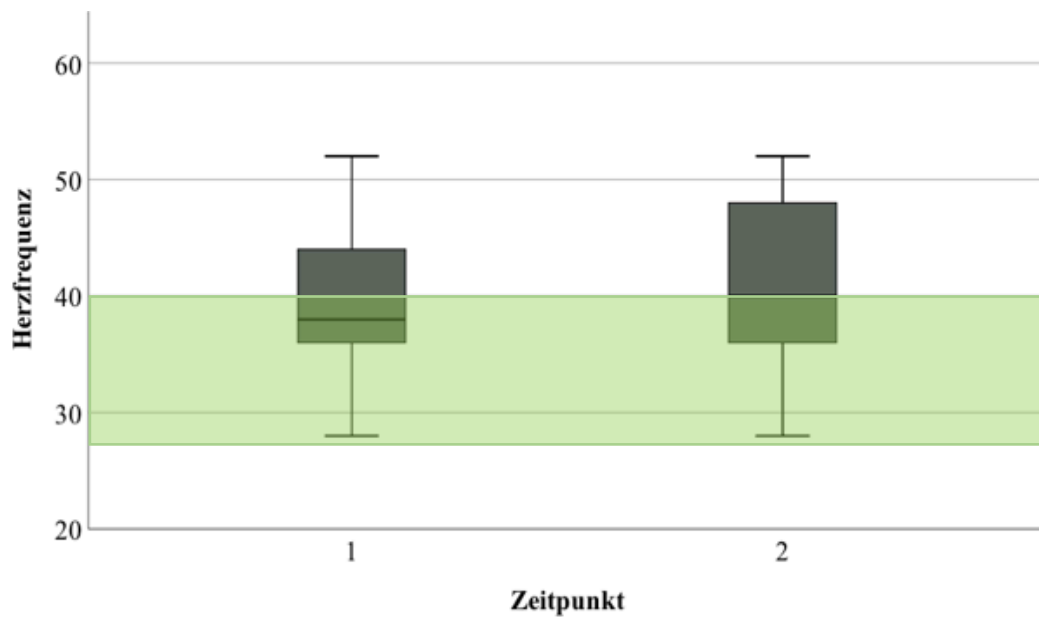


Abbildung 5:

Die Herzfrequenz (Schläge pro Minute) der 48 Patienten prä (1) – und postoperativ (2). Angegeben sind die jeweiligen Medianwerte (50%), die Minimal – und Maximalwerte und die Box (Interquartilabstand; 25 – 75%) der Herzfrequenz. Grün unterlegt: Referenzbereich der Herzfrequenz nach HUSKAMP et al. (1999) und WISSDORF et al. (2002).

Bei 21 Pferde (43,8%) war der Referenzbereich der Herzfrequenz vor der Kastration geringgradig überschritten (siehe Abb. 5). Neunzehn Pferde (39,6%) hatten eine Herzfrequenz von 44 bis 48 Schlägen pro Minute und 2 Pferde (4,2%) eine Herzfrequenz von 52 Schlägen pro Minute.

Bei der 2. Untersuchung, welche circa 22 bis 26 hr nach der Kastration stattfand, wiesen 28 Wallache (58,3%) eine Herzfrequenz im Referenzbereich auf. Bei 20 Wallachen (41,7%) wurde eine Herzfrequenz über dem Referenzwert gezählt (siehe Abb. 5). Davon wiesen 16 Pferde (33,3%) eine Herzfrequenz im Bereich von 44 bis 48 Schlägen pro Minute und 4 Pferde (8,3%) eine Herzfrequenz von 52 Schlägen pro Minute auf.

Insgesamt fällt auf, dass die Bereiche der Herzfrequenzhöhe (28 bis 52 Schläge pro Minute) zu beiden Zeitpunkten gleich ausfielen und sich nur die Verteilung der Anzahl der Pferde zu beiden Zeitpunkten unterschied (siehe Abb. 5 und 6).

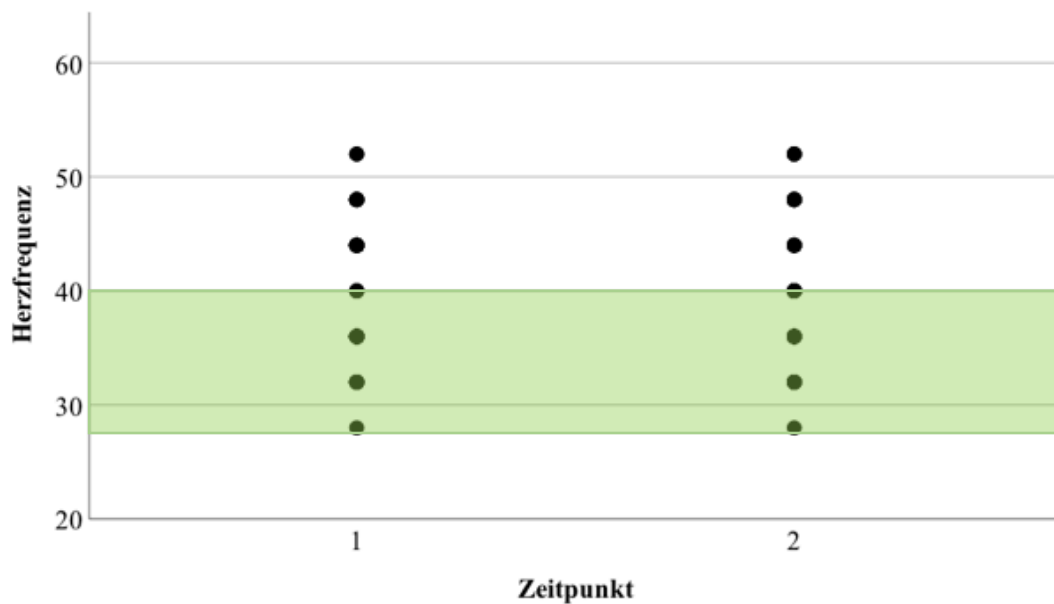


Abbildung 6:

Streudiagramm der Herzfrequenz (gemessen in Schläge pro Minute) der 48 Patienten prä (1) – und postoperativ (2). Grün unterlegt: Referenzbereich nach HUSKAMP et al. (1999) und WISSDORF et al. (2002).

Die Atemfrequenz betrug im Mittel zum Zeitpunkt vor der Kastration 14 Atemzüge pro Minute ($SD_{t1} \pm 4,9$; Median = 12 Atemzüge pro Minute) und nach der Kastration 16 Atemzüge pro Minute ($SD_{t2} \pm 5,6$; Median = 16 Atemzüge pro Minute). Damit lagen beide Mittelwerte im Referenzbereich nach HUSKAMP et al. (1999) und WISSDORF et al. (2002).

Einzelnen betrachtet lag die Atemfrequenz bei 39 Hengsten (81,3%) zum Zeitpunkt vor der Operation im Referenzbereich zwischen 8 und 16 Atemzügen pro Minute. Bei 9 Hengsten (18,8%) waren Atemfrequenzen zwischen 17 und 28 Atemzügen pro Minute zu beobachten (siehe Abb. 7).

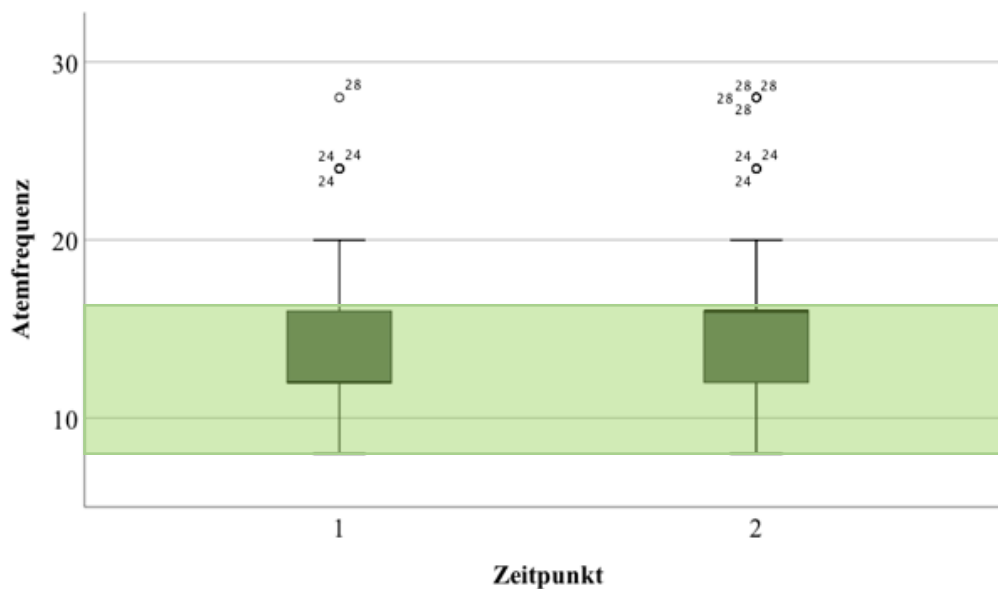


Abbildung 7:

Darstellung der Atemfrequenz (Atemzüge pro Minute) der 48 Patienten prä (1) – und postoperativ (2). Angegeben sind die jeweiligen Medianwerte (50%), die Minimal – und Maximalwerte, die Box (Interquartalsabstand, 25 – 75%) und die Ausreißer (Einzelwerte, 1,5 x Interquartalabstand) der Atemfrequenz. Grün unterlegt: Referenzbereich nach HUSKAMP et al. (1999) und WISSDORF et al. (2002).

Nach der Kastration war die Atemfrequenz bei 38 Pferden (79,2%) im Referenzbereich. Zehn Pferde (20,8%) wiesen eine Atemfrequenz oberhalb des Referenzbereiches auf, welche zwischen 17 bis 28 Atemzüge pro Minute lag.

Auch hier kann Anhand der Abb. 8 entnommen werden, dass sich die individuellen Höhen der Atemfrequenzen vor und nach der Kastration nicht unterschied. Die Verteilung der Werte, welche oberhalb des Referenzbereiches lagen, war hier fast ähnlich. Während vor der Kastration 9 Pferde (18,8%) Atemfrequenzen oberhalb der Referenzen aufwiesen, waren es nach der Kastration 10 Pferde (20,8%).

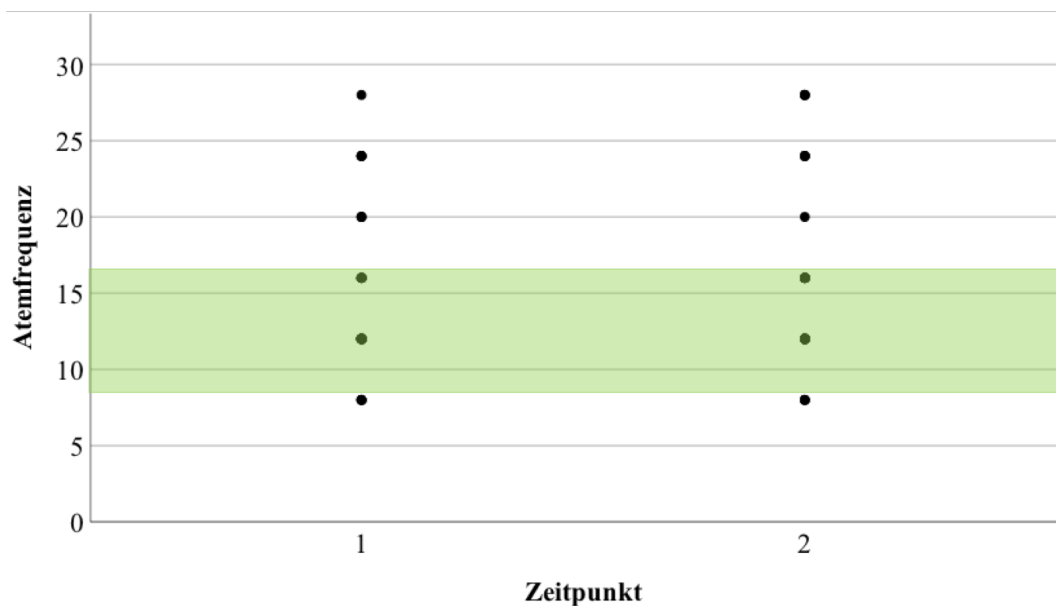


Abbildung 8:

Streudiagramm der Atemfrequenz (gemessen in Atemzüge pro Minute) der 48 Patienten prä (1) – und postoperativ (2). Grün unterlegt: Referenzbereich der Atemfrequenz nach WISSDORF et al. (2002).

1.2. Innere Körpertemperatur

Die Bestimmung der inneren Körpertemperatur konnte vor und nach der Kastration nur bei 45 Pferden durchgeführt werden. Drei Tiere konnten auf Grund ihres Verhaltens nicht gemessen werden. Nach WISSDORF et al. (2002) liegt die physiologische innere Körpertemperatur beim Pferd zwischen 37.0°C und 38.0°C.

Zum Zeitpunkt vor der Kastration lag die durchschnittliche innere Körpertemperatur bei 37,5°C ($SD_{t1} \pm 0,4$; Median = 37,5°C).

Es konnte bei 4 Hengsten (8,9%) eine geringgradige Erhöhung der inneren Körpertemperatur festgestellt werden, welche sich zwischen 38,1°C und 38,4°C bewegte (Abb.9). Zwei Pferde erhielten am Tag vor der Messung je eine Impfung gegen Tetanus (siehe Tab. 10). Bei den beiden anderen Hengsten konnte in der Anamnese kein Grund für die Temperaturerhöhung gefunden werden. Der Punkt 2.6. (in den Ergebnissen) befasst sich genauer mit Pferden, welche Auffälligkeiten bei der klinischen Untersuchung bzw. Messung von Parametern zeigten und stellt die Zusammenhänge mit anderen klinischen Parametern und Laborwerten dar.

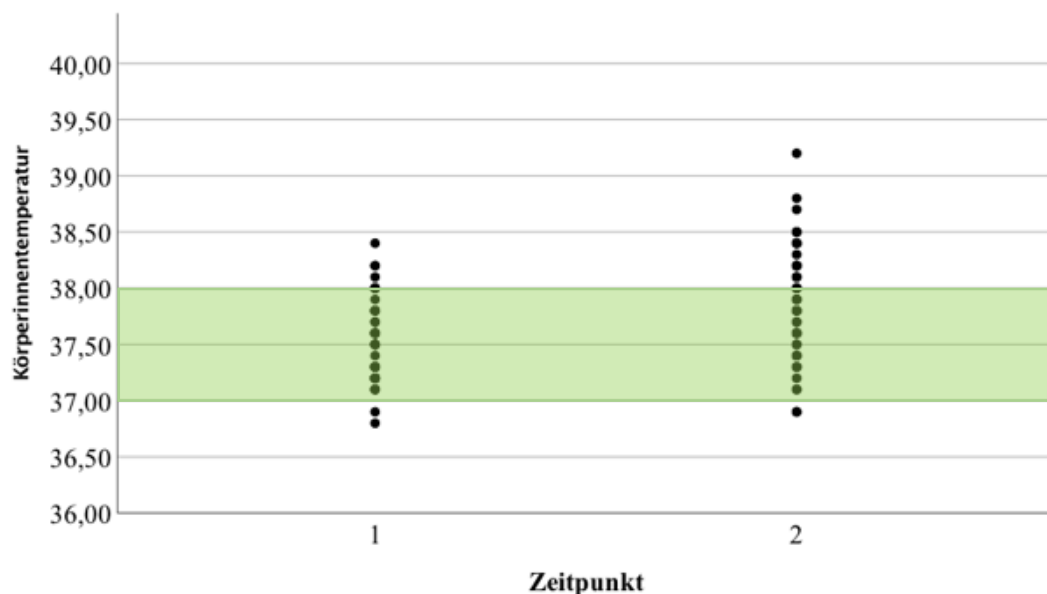
Tabelle 10:

Auflistung der 4 Pferde, welche eine innere Körpertemperatur über dem Referenzbereich nach WISSDORF et al. (2002) aufwiesen.

Proband	Innere Körpertemperatur	Mögliche Gründe für eine Erhöhung
7	38,1°C	Tetanus – Impfung am Tag vor der Messung
12	38,4°C	Tetanus – Impfung am Tag vor der Messung
32	38,2°C	-
44	38,2°C	-

Die Untersuchung der Parameter nach der Kastration fand in einem Zeitraum von 22 bis 26 hr nach der Operation statt. Der Mittelwert lag hier bei 37,9°C ($SD_{12} \pm 0,4$; Median = 37,8°C) und war somit im vorgegebenen Referenzbereich.

Einzeln betrachtet wiesen 16 Pferde (35,6%) nach der Kastration eine innere Körpertemperatur oberhalb des Referenzbereiches auf (Abb. 9). Der Mittelwert der inneren Körpertemperatur bei diesen 16 Pferden lag bei 38,4°C ($SD \pm 0,3$; Median = 38,4°C).

**Abbildung 9:**

Streudiagramm der inneren Körpertemperatur (gemessen in °C) der 45 Patienten prä (1) – und postoperativ (2). Grün unterlegt: Referenzbereich der inneren Körpertemperatur nach WISSDORF et al. (2002).

Die innere Körpertemperatur zum Zeitpunkt nach der Kastration war im Mittel zwar signifikant höher als vor der Kastration ($p < 0,001$, $M_{t1} = 37,5^{\circ}\text{C}$, $M_{t2} = 37,9^{\circ}\text{C}$, siehe Abb. 10), wobei beide Mittelwerte den Referenzbereich der inneren Körpertemperatur nicht überschritten.

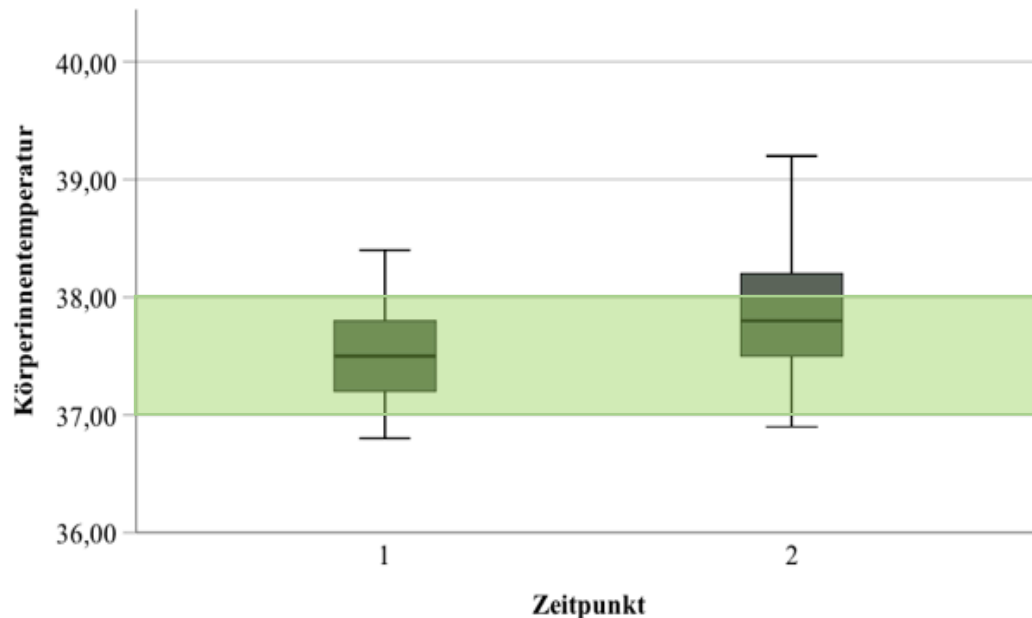


Abbildung 10:

Die innere Körpertemperatur (gemessen in $^{\circ}\text{C}$) der 45 Patienten prä (1) – und postoperativ (2). Angegeben sind die Medianwerte (50%), die Minimal – und Maximalwerte und die Box (Interquartalabstand; 25 – 75%) der inneren Körpertemperatur. Grün unterlegt: Referenzbereich der inneren Körpertemperatur nach WISSDORF et al. (2002).

1.3. Palpationsbefunde der Lymphonodi mandibulares

Zum Zeitpunkt vor der Kastration wiesen 6 Hengste (12,5%) unilateral geringgradig und 1 Hengst (2,1%) bilateral geringgradig geschwollene *Lnn. mandibulares* auf. Die geringgradig vergrößerten *Lnn. mandibulares* waren weiterhin weich, gelappt, verschieblich und nicht druckdolent. Nach der Kastration ergab der Palpationsbefund der *Lnn. mandibulares* bei 11 Pferden (22,9%) eine geringgradige Schwellung, bei 7 Pferde (14,6%) uni – und bei 4 Pferden (8,3%) bilateral. Auch hier war nur die Größe der *Lnn. mandibulares* auffallend. Fünf Pferden (10,4%) waren schon am Vortag bei der Untersuchung mit einem vom Normalbefund abweichenden Ergebnis aufgefallen.

Die Tab. 11 gibt eine Übersicht der vom Normalbefund abweichenden Befunde.

Tabelle 11:

Palpationsbefunde der Lnn. mandibulares prä (t_1) – und postoperativ (t_2). (obB. = ohne besonderen Befund).

Proband	Palpationsbefunde der Lnn. mandibulares	
	t_1	t_2
2	obB.	links: ggr. vergrößert
3	obB.	links: ggr. vergrößert
4	obB.	bilateral: ggr. vergrößert
6	rechts: ggr. vergrößert	rechts: ggr. vergrößert
12	rechts: ggr. vergrößert	rechts: ggr. vergrößert
22	links: ggr. vergrößert	bilateral: ggr. vergrößert
26	links: ggr. vergrößert	obB.
29	obB.	links: ggr. vergrößert
30	obB.	bilateral: ggr. vergrößert
33	links: ggr. vergrößert	links: ggr. vergrößert
37	bilateral: ggr. vergrößert	bilateral: ggr. vergrößert
39	links: ggr. vergrößert	obB.
40	obB.	links: ggr. vergrößert

1.4. Auskultation der Lunge

Zu beiden Zeitpunkten der Allgemeinuntersuchung konnten bei keinem der Pferde pathologische Befunde bei der Auskultation der beiden Lungenflügel festgestellt werden.

2. Laboruntersuchungen

2.1. EquiChekTM – SAA

Vor der Kastration wurden im Mittel 3,7 Linien ($SD_{t1} \pm 0,9$; Median = 4 Linien) mittels des EquiChekTM – SAA gemessen.

Bei 43 Pferden (89,6%) wurde eine SAA – Konzentration von unter 25 mg/l (4 Linien) gemessen, welche nach den Angaben des Herstellers des EquiChekTM –

SAA bei einem gesunden Pferd vorliegt. Bei 5 Hengsten (10,4%) konnte eine klinisch signifikante Entzündung mittels des EquiChekTM – SAA (1 Linie) festgestellt werden. Hier lag die SAA – Konzentration nach dem Hersteller bei über 200 mg/l. Zu diesen 5 Pferden wird in einem nachfolgenden Abschnitt (siehe Punkt 2.6. der Ergebnisse) noch genauer Stellung bezogen.

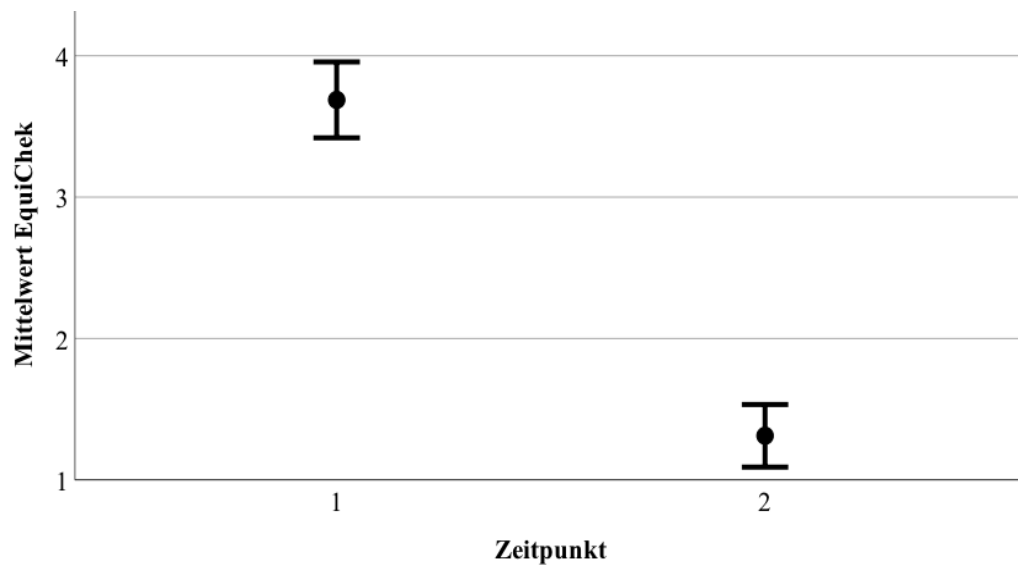
Nach der Kastration war der Mittelwert bei 1,3 Linien ($SD_{t_2} \pm 0,8$; Median = 1 Linie). Bei 41 Wallachen (85,4%) wurde 1 Linie im EquiChekTM – SAA beobachtet (über 200 mg/l). Bei 3 Wallachen (6,3%) lag laut dem Hersteller des EquiChekTM – SAA keine Entzündung (4 Linien, unter 25 mg/l) vor. Bei 2 Wallachen (4,2%) konnten 3 Linien im EquiChekTM – SAA (25 – 75 mg/l) und bei 3 Wallachen (6,3%) 2 Linien (75 – 200 mg/l) im Testfenster des EquiChekTM – SAA beobachtet werden. Als Übersicht dient die nachfolgende Tab. 12.

Tabelle 12:

Ergebnis der EquiChekTM – SAA – Messung (Angaben in Linien) prä (t_1) – und postoperativ (t_2).

Zeitpunkt	Mittelwert (Standardabweichung)	Minimum	Maximum	Median	Anzahl
t_1	3,7 ($\pm 0,9$)	1	4	4	48
t_2	1,3 ($\pm 0,8$)	1	4	1	48

Die Messergebnisse des EquiChekTM – SAA ergaben einen hochsignifikanten Unterschied zwischen den beiden Zeitpunkten (siehe Abb. 11). Die nach der Kastration gemessene SAA – Konzentration war signifikant erhöht im Vergleich zu der vor der Kastration gemessenen Konzentration ($t(48) = 14.78, p < 0.001$).

**Abbildung 11:**

Einfaches Fehlerbalkendiagramm für die EquiChek™ – SAA – Mittelwerte prä (1) – und postoperativ (2). Angegeben sind die Mittelwerte mit einem Konfidenzintervall von 95%.

Im Verlauf der vorliegenden Studie hat sich gezeigt, dass das Schnellmessgerätes EquiChek™ – SAA am Pferd hinsichtlich der einfachen Handhabung und schnellen Durchführbarkeit sehr praktikabel ist. Der Test liefert innerhalb von 10 Minuten ein Ergebnis, welches mit Hilfe der mitgelieferten Beschreibung eindeutig interpretiert werden kann.

2.2. Der Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Der Mittelwert der SAA – Konzentration, welche mit dem ELISA im Labor gemessen wurde, lag vor der Kastration bei einem Wert von 10,9 mg/l ($SD_{t1} \pm 36,6$; Median = 0 mg/l).

Tabelle 13:

Ergebnisse der Labormessung von SAA (gemessen in mg/l) prä (t_1) – und postoperativ (t_2).

Zeitpunkt	Mittelwert (Standardabweichung)	Minimum	Maximum	Median	Anzahl
t_1	10,9 (\pm 36,6)	0	183	0	48
t_2	215,0 (\pm 259,2)	0	> 800	122	48

Vier Pferde (8,3%) wiesen eine mittels ELISA gemessene SAA – Konzentration auf, welche deutlich über den Referenzwerten verschiedener Autoren (siehe dazu Tab. 3 in Punkt 4.2. im Literaturteil) lag. Proband 12 hatte eine SAA – Konzentration von 13 mg/l und befand sich somit nicht eindeutig über den genannten Referenzwerten. Punkt 2.6. (der Ergebnisse) bringt die auffälligen Ergebnisse der Labormessung mit den Ergebnissen des Schnelltests und den weiteren Parametern der klinischen Untersuchung und des Labors in einen Zusammenhang.

Bei der 2. Messung 22 bis 26 hr nach der Kastration lag der Mittelwert der SAA – Konzentration bei 215 mg/l ($SD_{12} \pm 259,2$; Median = 122 mg/l).

Damit wiesen nach der Kastration 14 Wallache (29,2%) eine SAA – Konzentration unter 30 mg/l (Referenzwert nach NUNOKAWA et al., 1993) und 7 Wallache (14,6%) eine Konzentration unter 7 mg/l (Referenzwert nach HULTEN et al., 1999b) auf.

Zwischen den beiden Messungen konnte ein hochsignifikanter Unterschied der SAA – Konzentration beobachtet werden (siehe Abb. 12). Die SAA – Konzentration vor der Kastration war hochsignifikant niedriger als nach der Kastration ($t(48) = 8.17, p < 0.001$).

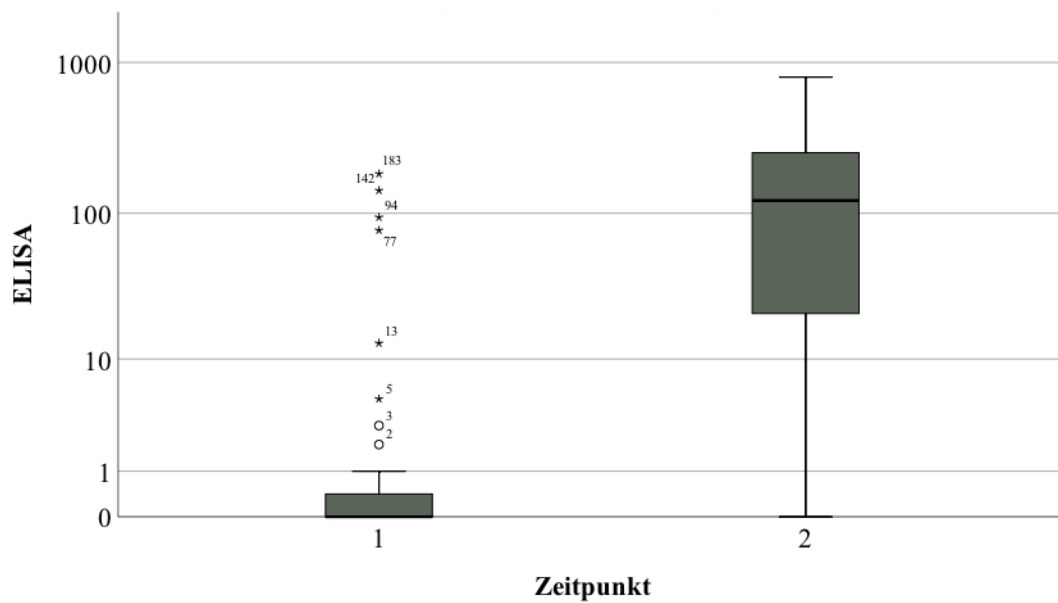


Abbildung 12:

Messergebnisse des ELISA (gemessen in $\mu\text{g/ml}$) prä (1) – und postoperativ (2). Angegeben sind die jeweiligen Medianwerte (50%), die Minimal – und Maximalwerte, die Box (Interquartalabstand; 25 – 75%) und die Ausreißer (Einzelwerte, $\circ = 1,5 \times \text{Interquartalabstand}$; $\ast > 3,0 \times \text{Interquartalabstand}$) der Ergebnisse des ELISA. Die Skala ist logarithmisch dargestellt.

2.3. Gesamtleukozyten (*White Blood Cell Count, WBC*)

Der Mittelwert des Gesamtleukozyten lag vor der Kastration bei $8,0 \times 10^3 \text{ WBC}/\mu\text{l}$ ($\text{SD} \pm 1,3 \times 10^3$; Median = $8,4 \times 10^3 \text{ WBC}/\mu$) und nach der Kastration bei $8,3 \times 10^3 \text{ WBC}/\mu\text{l}$ ($\text{SD} \pm 1,8 \times 10^3$; Median = $8,4 \times 10^3 \text{ WBC}/\mu$). Vor der Kastration konnten Konzentrationen der Gesamtleukozyten zwischen $5,7 \times 10^3 \text{ WBC}/\mu\text{l}$ und $9,7 \times 10^3 \text{ WBC}/\mu\text{l}$ gemessen werden und lagen somit im vorgegebenen Referenzbereich (Abb. 13).

Nach der Kastration konnte bei 2 Pferden (15,4%, Proband 37: $11,6 \times 10^3 \text{ WBC}/\mu\text{l}$, Proband 39: $11,0 \times 10^3 \text{ WBC}/\mu\text{l}$) eine geringgradige Leukozytose im Blut festgestellt werden (Abb. 13). Proband 44 zeigte am Tag nach der Kastration eine Leukopenie ($4,4 \times 10^3 \text{ WBC}/\mu\text{l}$).

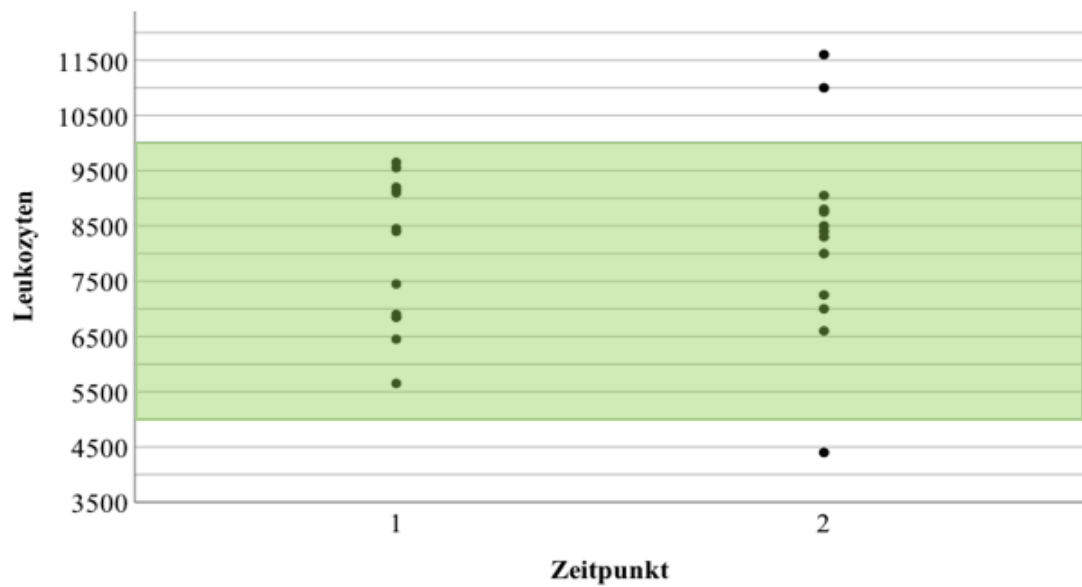


Abbildung 13:

Streudiagramm für die Zählung der Gesamtleukozyten (gemessen in WBC/ μ l) der 13 Patienten prä (1) – und postoperativ (2). Grün unterlegt: Referenzbereich der Gesamtleukozyten nach der DVG (1982).

Bei der Messung der Gesamtleukozyten konnte zwischen den beiden Zeitpunkten kein signifikanter Unterschied festgestellt werden ($t(13) = -0.7$, $p = 0.5$; Abb. 14).

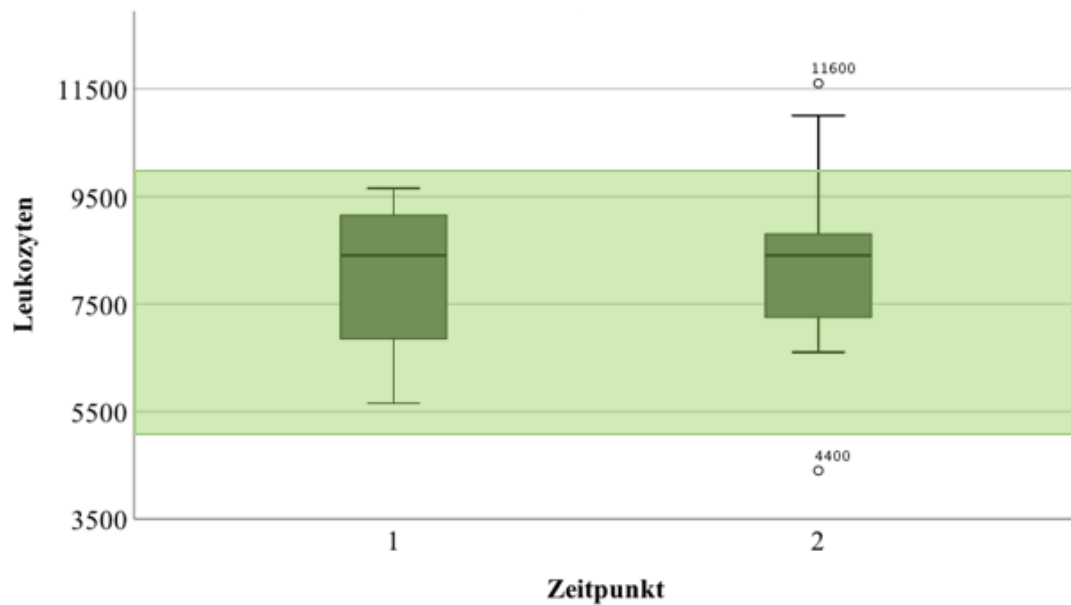


Abbildung 14:

Darstellung der Zählung der Gesamtleukozyten (gemessen in WBC/ μ l) der 13 Patienten prä (1) – und postoperativ (2). Angegeben sind die jeweiligen Medianwerte (50%), die Minimal – und Maximalwerte, die Box (Interquartalarabstand; 25 – 75%) und die Ausreißer (Einzelwerte, $^{\circ} = 1,5 \times$ Interquartalarabstand) der Zählung der Gesamtleukozyten. Grün unterlegt: Referenzbereich der Gesamtleukozyten nach der DVG (1982).

2.4. Fibrinogen

Der Mittelwert der Fb – Messung lag zu beiden Zeitpunkten bei 292 mg/dl ($SD \pm 118$; $Median_{t1} = 300$ mg/dl; $Median_{t2} = 200$ mg/dl) (Abb. 15).

Zum Zeitpunkt der ersten Messung vor der Kastration wies 1 Hengst eine geringgradige Erhöhung des Fb – Wertes auf (Proband 37: 500 mg/dl). Zu diesem Probanden wird im Punkt 2.6. (der Ergebnisse) noch genauer Stellung bezogen.

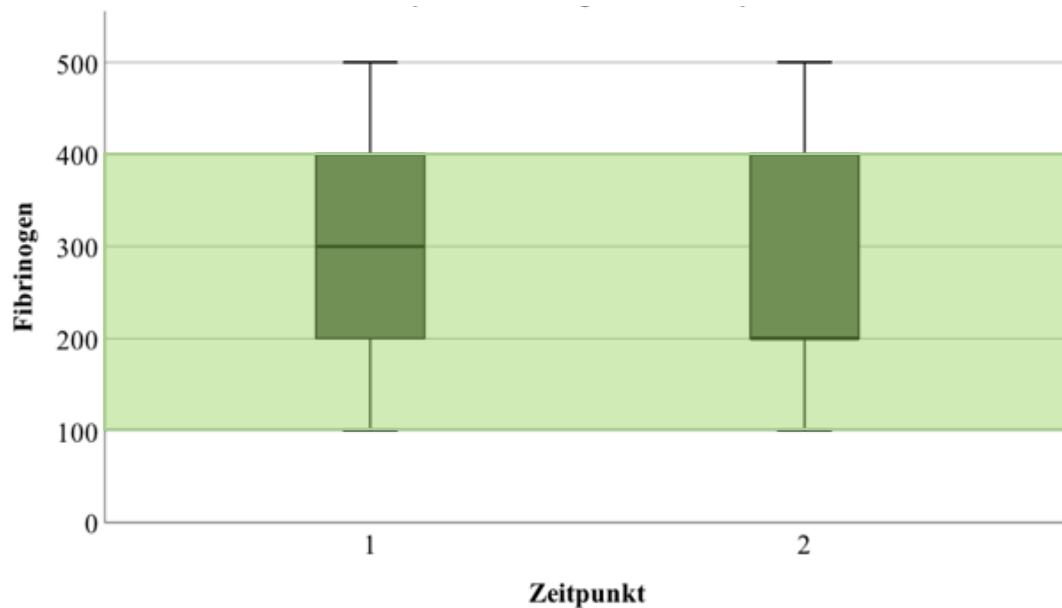


Abbildung 15:

Darstellung der Fb – Messung (gemessen in mg/dl) der 13 Patienten prä (1) – und postoperativ (2). Angegeben sind die jeweiligen Medianwerte (50%), die Minimal – und Maximalwerte und die Box (Interquartalabstand; 25 – 75%) der Fb – Messung. Grün unterlegt: Referenzbereich von Fb nach JACOBSEN und ANDERSEN (2007) und CRISMAN et al. (2008).

Nach der Kastration wurde bei 3 Wallachen (23,1%) geringgradig erhöhte Fb – Werte gemessen (Proband 37/38/39: 500 mg/dl), wobei Proband 37 diesen Fb – Wert schon vor der Operation aufwies.

Die beiden Mittelwerte der Fb – Messung vor und nach der Kastration zeigten keine signifikante Erhöhung ($p = 1$; Abb. 15).

2.5. Vergleich beider SAA – Messmethoden

Für den Nachweis der Hypothese wurden die beiden Messmethoden für das SAA, der EquiChek™ – SAA und die Labormethode (ELISA), verglichen und die Korrelation nach *Bravais Pearson* berechnet.

Hierbei konnte festgestellt werden, dass eine signifikante Korrelation zwischen den beiden Messmethoden zu beiden Zeitpunkten der Messungen bestand. In der folgenden Tab. 14 wird dieser Zusammenhang anhand einer Korrelationstabelle

gezeigt.

Tabelle 14:

*Korrelationstabelle der SAA – Konzentration gemessen mit dem EquiChek™ – SAA (gemessen in Linien) und der Labormethode ELISA (recodiert in Linien) zu den Zeitpunkten vor der Kastration (t1) und nach der Kastration (t2). Die beiden ** zeigen eine starke, positive Korrelation an.*

	EquiChek™ – SAA_{t1}	ELISArec₁	EquiChek™ – SAA_{t2}	ELISArec₂
EquiChek™ – SAA_{t1}	-			
ELISArec₁	0,9**	-		
EquiChek™ – SAA_{t2}	0,1	0,1	-	
ELISArec₂	0,3	0,2	0,5**	-

Vor der Kastration, bei durchschnittlich niedrigen SAA – Konzentrationen, war die Korrelation zwischen dem EquiChek™ – SAA und dem ELISA hochsignifikant ($r = 0.9$, $p < 0.001$) und zeigte damit eine sehr gute Übereinstimmung.

Bei den hohen SAA – Konzentrationen nach der Kastration war die Korrelation der beiden Messmethoden ebenfalls signifikant ($r = 0.5$, $p < 0.03$).

Der Korrelationskoeffizient (r) macht deutlich, dass die Messung mit niedrigen SAA – Konzentrationen einen stärkeren Zusammenhang ergibt als mit hohen Konzentrationen ($r_{t1} = 0.9$; $r_{t2} = 0.5$). Dies wird in der nachfolgenden Darstellung (Abb. 16) grafisch verdeutlicht.

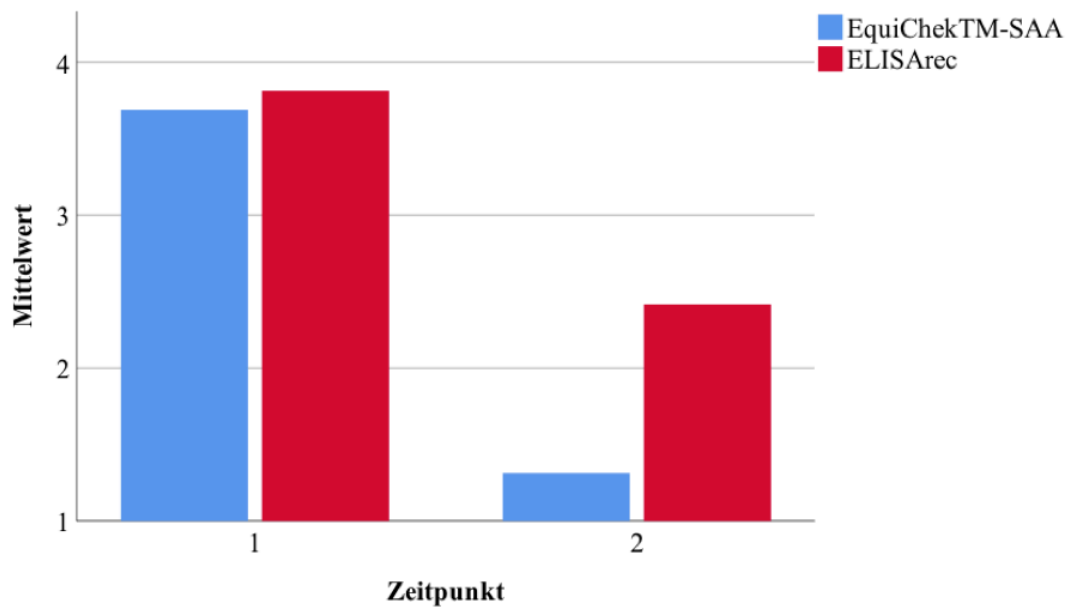


Abbildung 16:

Darstellung der Mittelwerte resultierend aus der Messung mit dem EquiChekTM – SAA (blau) und dem ELISA (rot) prä (1) – und postoperativ (2). Die ELISA – Werte wurden für die Darstellung recodiert und in die Linien des EquiChekTM – SAA umgewandelt.

Zudem konnte mithilfe der linearen Regression festgestellt werden, dass zu beiden Zeitpunkten der EquiChekTM – SAA einen hochsignifikanten Prädiktor für die Labormethode (ELISA) darstellt (t_1 : $\beta = 0.9$, $R^2 = 0.7$, $p \leq 0.001$; t_2 : $\beta = 0.5$, $R^2 = 0.2$, $p \leq 0.001$). Auch bei der linearen Regression liegt ein Unterschied zwischen den niedrigen und den hohen SAA – Konzentrationen vor. Der β – Wert zum Zeitpunkt t_1 ist deutlich höher als zum Zeitpunkt t_2 ($\beta_1 = 0.9$, $\beta_2 = 0.5$). Der EquiChekTM – SAA ist also bei niedrigeren SAA – Werten ein sehr viel genauerer Prädiktor als bei höheren Werten für die SAA – Konzentration gemessen durch den ELISA.

2.6. Auffälligkeiten

Bei 5 Pferden (Probanden 7, 10, 12, 27, 37) wurde bereits zum Zeitpunkt vor der Kastration mithilfe des EquiChekTM – SAA eine klinisch signifikante Entzündung (eine Linie; SAA > 200 mg/l) festgestellt. Um Messfehler auszuschließen wurden diese Tests 2fach angefertigt. Zusätzlich wurde bei diesen 5 Hengsten im klinikeigenen Labor die Bestimmung der Gesamtleukozyten und des Fb

durchgeführt, um weitere Entzündungsparameter zu erhalten. Die Tab. 15 zeigt eine Übersicht der 5 Hengste, die mit einer klinisch signifikanten Entzündung, gemessen mit dem EquiChek™ – SAA, auffielen.

Tabelle 15:

Auflistung der Hengste, welche am Tag vor der Kastration mit einer klinisch signifikanten Entzündung (gemessen mit dem EquiChek™ – SAA) auffällig waren. Darstellung der Parameter EquiChek™ – SAA, ELISA, Gesamtleukozyten, Fb und innere Körpertemperatur (KIT).

Hengste	EquiChek™ – SAA (Linien)		ELISA (mg/l)		Gesamt-leukozyten (x 10 ³ WBCs/μl)	Fb mg/dl	KIT °C	
Zeit	t ₁	t ₂	t ₁	t ₂	t ₁	t ₁	t ₁	t ₂
7	1	1	94	>800	13,0	300	38,1	37,4
10	1	1	142	199	7,5	400	37,6	38,1
12	1	1	13	>800	7,4	200	38,4	38,4
27	1	1	183	106	9,0	400	37,2	38,4
37	1	1	77	229	9,1	500	37,9	37,6

Bei Proband 7 konnte im Blutbild eine deutliche Leukozytose festgestellt werden. Die Temperatur lag zu diesem Zeitpunkt bei 38,1°C und damit leicht oberhalb des Referenzwertes. Alle weiteren klinischen Untersuchungen waren obB.. Mittels des ELISA zeigte sich bei diesem Pferd auch ein deutlich erhöhter SAA – Wert (94 mg/l). Dieser Hengst wurde am Tag vor der Operation mit dem Impfstoff Equilis® Tetanus (MSD – Tiergesundheit, Unterschleißheim, Deutschland) geimpft. Die Messung mit dem EquiChek™ – SAA zeigte einen Tag nach der Kastration ebenfalls eine klinisch signifikante Entzündung an. Auffällig war, dass dieser Wallach bei der Messung mit dem ELISA eine SAA – Konzentration von über 800 mg/l hatte. Die innere Körpertemperatur lag bei der Untersuchung am Tag nach der Operation wieder innerhalb des Referenzbereiches (37,4°C).

Proband 10 zeigte bis auf die erhöhten SAA – Werte im EquiChek™ – SAA (1 Linie = > 200 mg/l) und gemessen durch den ELISA (142 mg/l) keinerlei Veränderungen bei den Laborparametern (Gesamtleukozyten und Fb) oder in der klinischen Untersuchung. Auch in der Anamnese konnte kein Grund für die klinisch signifikante Entzündung gefunden werden. Am Tag nach der Kastration zeigte der

EquiChekTM – SAA 1 Linie (SAA – Konzentration von > 200 mg/l). Mittels ELISA konnte ein Anstieg der SAA – Konzentration auf 199 mg/l gemessen werden. In der klinischen Untersuchung wies dieser Proband am Tag nach der Kastration eine innere Körpertemperatur von 38,1°C auf.

Ein ebenfalls am Vortag der Kastration geimpfter Hengst (Proband 12; Equilis® Tetanus) wies einen nach dem EquiChekTM – SAA gemessenen SAA – Wert von > 200 mg/l auf, aber keinerlei weitere erhöhte Entzündungsparameter (Gesamtleukozyten und Fb). Die Labormessung ergab bei diesem Pferd lediglich eine SAA – Konzentration von 13 mg/l. Bei der klinischen Untersuchung hatte dieser Hengst zum Zeitpunkt vor der Kastration eine geringgradig erhöhte innere Körpertemperatur (38,4°C) und zeigte unilateral geringgradig geschwollene *Lnn. mandibulares*. Am Tag nach der Operation konnte mittels dem EquiChekTM – SAA eine Linie (> 200 mg/l) gemessen werden. Die SAA – Konzentration im Labor war wie bei Proband 7 bei über 800 mg/l. Klinisch zeigte der Wallach weiterhin eine erhöhte innere Körpertemperatur (38,4 °C) und unilateral geringgradig geschwollene *Lnn. mandibulares*.

Bei dem Proband 27 konnten weder bei der Bestimmung von weiteren Entzündungsparametern (Gesamtleukozyten und Fb) noch in der klinischen Untersuchung Auffälligkeiten gefunden werden. Die Messung der SAA – Konzentration mittels des ELISAs ergab einen deutlich erhöhten Wert (183 mg/l) und signalisierte, wie auch das Ergebnis des EquiChekTM – SAA, das Vorliegen einer klinisch signifikanten Entzündung. Überraschend war das Ergebnis der Labormessung am Tag nach der Kastration. Dieses ergab zwar eine deutlich erhöhte SAA – Konzentration (106 mg/l), lag dabei aber unter dem Wert am Tag vor der Kastration. Dagegen zeigte die klinische Untersuchung eine geringgradige Erhöhung der inneren Körpertemperatur (38,4°C).

Proband 37 wies einen Fb – Wert auf, welcher geringgradig über dem Referenzwert lag (500 mg/dl). Die Gesamtleukozyten dagegen befanden sich innerhalb des Referenzbereiches. Bei diesem Hengst konnte mittels beider Messmethoden eine erhöhte SAA – Konzentration festgestellt werden. Der EquiChekTM – SAA zeigte 1 Linie und die Messung mittels ELISA einen Wert von 77 mg/l. Klinisch konnten bilateral geringgradig geschwollene *Lnn. mandibulares* festgestellt werden. Am Tag nach der Kastration konnte ein Anstieg der SAA – Konzentration (229 mg/l,

ELISA) und der Gesamtleukozytenzahl ($11,6 \times 10^3$ WBC/ μ l) festgestellt werden. Das Ergebnis des EquiChekTM – SAA (1 Linie) und der Fb – Wert (500 mg/dl) änderten sich nicht. Klinisch waren, wie am Tag vor der Kastration, die *Lnn. mandibulares* bilateral geringgradig vergrößert.

Allen 5 Hengsten war also der bereits vor der Kastration deutlich erhöhte SAA – Wert, gemessen mit dem EquiChekTM – SAA, gemeinsam, während die Gesamtleukozyten, der Fb – Wert und die klinischen Parameter sehr unterschiedlich verändert waren. Die SAA – Messung mithilfe des ELISA zeigte bei 4 Pferden (Probanden 7, 10, 27 und 37) ebenfalls eine deutlich erhöhte SAA – Konzentration. Lediglich Proband 12 wies eine mit dem ELISA gemessene SAA – Konzentration auf, welche nicht eindeutig eine Entzündung anzeigte (siehe dazu auch Tab. 3 in Punkt 4.2. im Literaturteil).

Proband 32 hatte zum Zeitpunkt vor der Kastration eine geringgradig erhöhte innere Körpertemperatur von 38,2°C. Die klinische Untersuchung und die Messung des SAA konnten zu diesem Zeitpunkt keine Anzeichen einer Entzündung aufzeigen. Die Messung der inneren Körpertemperatur am Tag nach der Kastration ergab 38,5°C.

Eine leichte erhöhte innere Körpertemperatur (38,2°C) konnte auch bei Proband 44 bei der Erstuntersuchung festgestellt werden. Die Messung von SAA, Gesamtleukozyten und Fb waren zu diesem Zeitpunkt jedoch ohne Befund (EquiChekTM – SAA: 4 Linien, ELISA: 1 mg/l, Gesamtleukozyten: $6,5 \times 10^3$ WBC/ μ l, Fb: 400 mg/dl). Bei der Untersuchung am Tag nach der Kastration lag die innere Körpertemperatur wieder im Referenzbereich. Der Anstieg der SAA – Konzentration konnte mit beiden Messmethoden gezeigt werden. Auffällig war hier die Leukopenie ($4,4 \times 10^3$ WBC/ μ l) bei der Messung am Tag nach der Operation.

V. DISKUSSION

1. Diskussion der Methode

1.1. Auswahl der Operationsmethode und der Testzeitpunkte

Für die Validierung eines Testsystems werden zum einen niedrig zu testende Konzentrationen und zum anderen deutlich erhöhte Werte benötigt, um die gesamte Messbreite des Testsystems überprüfen zu können.

Ausgehend davon, dass das SAA nach einem invasiven Stimulus einen starken Konzentrationsanstieg zeigt, wurden in der vorliegenden Arbeit daher für die Evaluierung des Schnellmesssystems EquiChek™ – SAA Konzentrationen von SAA vor und nach einem standardisierten, operativen Eingriff gemessen. Dafür wurde an den in der Studie involvierten Pferden (n = 48) eine Kastration nach standardisiertem Protokoll von 2 routinierten Chirurgen unter Allgemeinanästhesie als elektiver Eingriff zwischen Mai 2014 und Mai 2015 durchgeführt. Die Kastration von Hengsten ist der häufigste Eingriff in der Pferdepraxis (MAASSEN und GERHARDS, 2009) und wurde als standardisierte Operationsmethode in der Literatur schon häufig für verschiedene Messverfahren von Laborparametern, insbesondere von SAA, genutzt (PEPYS et al., 1989; NUNOKAWA et al., 1993; HULTEN et al., 1999b; POLLOCK et al., 2005; JACOBSEN et al., 2005). Die SAA – Konzentration zeigt einen charakteristischen Verlauf des Anstiegs und des Absinkens nach einer Kastration (JACOBSEN und ANDERSEN, 2007). HULTEN et al. (1999b) zeigten in ihrer Studie mittels einer grafischen Darstellung, dass das Muster des SAA – Verlaufes nach der Kastration bei 7 Pferden mit einem Anstieg der Konzentration, einem Peak und einem Abfall ähnlich verlief. In der Konzentrationshöhe zeigten sich bei den verschiedenen Pferden Unterschiede.

In der Pferdeklinik Bieberstein stellt die Kastration einen Routineeingriff dar, welcher von den beiden in der vorliegenden Studie involvierten Chirurgen immer auf die gleiche Weise ausgeführt wurde, um standardisierte Bedingungen zu gewährleisten.

Je nach Autoren bzw. Messmethoden (NUNOKAWA et al., 1993; HULTEN et al., 1999; JACOBSEN et al., 2006a; JACOBSEN et al., 2006b; JACOBSEN et al., 2007) wurden in den Blutproben zum Zeitpunkt vor der Kastration daher nicht

messbare oder sehr niedrige SAA – Konzentrationen bei den Hengsten erwartet (siehe auch Punkt 4.2. im Literaturteil). Bei der Messung mit dem EquiChek™ – SAA sollten demnach vor der Kastration 4 (unter 25 mg/l) oder 3 (zwischen 25 und 75 mg/l) Linien gemessen werden.

Die 2. SAA – Messung, welche deutlich höhere Werte als bei der 1. Messung zeigen sollte, wurde nach 22 bis 26 hr nach der Kastration durchgeführt. Wie mehrfach in der Literatur gezeigt werden konnte, lösen chirurgische Eingriffe eine APR aus und führen unter anderem zu erhöhten Werten von SAA (PEPYS et al., 1989; NUNOKAWA et al., 1993; HULTEN et al., 1999b; MILLER et al., 2003; JACOBSEN et al., 2005; JACOBSEN et al., 2009). Es folgt ein charakteristischer Verlauf der SAA – Konzentration mit einem starken und unmittelbaren Anstieg, einem Peak und einem deutlichen Abfall der SAA – Werte. Schon 6 hr nach einer Kastration konnte NUNOKAWA et al. (1999) eine Konzentrationserhöhung von SAA messen. Der Zeitpunkt der höchsten SAA – Konzentration wurde in den meisten Studien 48 hr nach der Kastration gemessen (PEPYS et al., 1989; NUNOKAWA et al., 1993; HULTEN et al., 1999b). POLLOCK et al. (2005) konnten im Rahmen ihrer Studie einen Peak von SAA 24 hr nach den chirurgischen Eingriffen (verschiedene elektive Operationen, einschließlich Kastrationen) beobachten. In den Studien wurde die Höhe des Peaks mit sehr unterschiedlichen Konzentrationen angegeben. Während bei HULTEN et al. (1999b) die Konzentrationen von SAA am 2. Tag zwischen 10 und 110 mg/l lagen, wurden bei NUNOKAWA et al. (1993) Werte, welche 4 – bis 20mal so hoch wie die Referenzwerte waren, gemessen. In der Studie von POLLOCK et al. (2005) wurden 24 hr nach den elektiven Eingriffen SAA – Konzentrationen von im Mittel 16,4 µg/ml (SD ± 7,1) erreicht. Die Unterschiede können zum einem damit erklärt werden, dass in den 3 Studien jeweils unterschiedliche Messmethoden benutzt wurden und zum anderen durch die Art des chirurgischen Eingriffes. NUNOKAWA et al. (1993) benutzten einen Immunodiffusionstest (Gel – Filtration mit Sephadex G – 75), HULTEN et al. (1999b) einen Immunoassay mit polyklonalem anti – equinem Amyloid A AK und POLLOCK et al. (2005) einen ELISA (*Tridelta Phase Series*). JACOBSEN und ANDERSEN (2007) wiesen in ihrer Arbeit darauf hin, dass die SAA – Konzentrationen, welche mit verschiedenen Messmethoden bestimmt wurden, nicht direkt vergleichbar sind und damit absolute Konzentrationen und Referenzwerte zwischen den Studien variieren können.

Während bei NUNOKAWA et al. (1993; n = 6, keine Angaben zum Alter der Pferde) und HULTEN et al. (1999b; n = 7, keine Angaben zum Alter der Pferde) nur die Kastration in Allgemeinanästhesie den Stimulus für die APR darstellte, waren bei POLLOCK et al (2005; n = 19, Alter zwischen 6 Monate und 11 Jahren, Mittelwert 3,4 Jahre) verschiedene elektive Eingriffe (unter anderem Kastration, Kryptorchidektomie, Laryngoplastik, Staphylektomie, Ovariektomie) in Allgemeinanästhesie der Auslöser für den Konzentrationsanstieg von SAA. Über die verschiedenen Konzentrationshöhen von SAA in den Studien wird im Punkt 2.2.1 in der Diskussion noch ausführlich diskutiert. Danach zeigte sich ein Abfall der SAA – Konzentration. NUNOKAWA et al. (1993) berichteten, dass innerhalb von 3 Wochen die SAA – Konzentration ihr normales Niveau ($19,7 \mu\text{g/ml}$, $\text{SD} \pm 9,6$) annahm, während bei HULTEN et al (1999b) bereits 8 Tage nach der Kastration die Ausgangswerte ($< 7 \text{ mg/l}$) erreicht wurde. Die Wallache in diesen beiden Studien zeigten einen ungestörten Heilungsverlauf nach der Kastration, womit die Unterschiede der zeitlichen Diskrepanz nicht erklärt werden können.

Dieser Konzentrationsverlauf von SAA nach der Kastration zeigt, dass am ersten Tag nach dem chirurgischen Eingriff mit einer deutlichen Erhöhung von SAA zu rechnen ist (PEPYS et al., 1989; NUNOKAWA et al., 1993; HULTEN et al., 1999b). Aus diesem Grund wurde in der vorliegenden Studie dieser Zeitraum (22 bis 26 hr nach der Kastration) für die 2. Beprobung verwendet.

Für erhöhte SAA – Konzentrationen lag die Messbreite des EquiChekTM – SAA bei 75 bis 200 mg/l (2 Linien) und über 200 mg/l (1 Linie). Um also in der vorliegenden Studie erhöhte Konzentrationen mittels dem EquiChekTM – SAA messen und auch Bereiche einer milden bis moderaten Entzündung (75 bis 200 mg/l) erhalten zu können, wurde die 2. Messung in der Anstiegsphase von SAA (22 bis 26 hr) nach der Kastration angesetzt.

Zusammenfassend kann behauptet werden, dass die Kastration als standardisierte Operationsmethode mehrfach als Stimulans für die Messungen von Entzündungsparametern, insbesondere von SAA, in der Literatur Verwendung gefunden hat. Mit dem charakteristischen und bereits mehrfach definierten Verlauf von SAA nach dieser Operation konnten die Messzeitpunkte für das SAA so bestimmt werden, dass man sowohl niedrige, mittlere als auch hohe Konzentrationen von SAA in der vorliegenden Studie erwarten konnte. Für die

Messung von SAA wurden nur Pferde, welche in der Pferdeklinik Bieberstein kastriert wurden, ausgewählt, um standardisierte Rahmenbedingungen zu gewährleisten.

1.2. Lagerung der Serumproben

Zu den beiden Zeitpunkten der SAA – Messung wurden zum einen Vollblutproben und zum anderen Serumproben genommen.

Während die EquiChekTM – SAA – Messung aus dem Vollblut unmittelbar nach der Blutabnahme stattfand, erfolgte die Verarbeitung der Serumproben im klinikeigenen Labor. Das Serum wurde unmittelbar nach der Zentrifugation bei – 20°C eingefroren und bis zum Ende der Probenentnahme gelagert. Die Lagerungszeit der Proben betrug im Mittel 17,4 Monate (SD \pm 4,3).

Das Einfrieren bei – 20°C von Serumproben zur Aufbewahrung und späteren Messung von SAA wird in der Literatur sehr häufig beschrieben (HULTEN und DEMMERS, 2002; ROTHKRANTZ – KOS et al., 2003; POLLOCK et al., 2005; JACOBSEN et al., 2005; JACOBSEN et al., 2006; NASH et al., 2010; HALTMAYER et al., 2017). Allerdings gibt es widersprüchliche Angaben in Bezug auf die Lagerung von Serumproben und die Stabilität von SAA.

TOTHOVA et al. (2012) konnten bei der Lagerung von bovinen Serumproben bei – 18°C eine signifikante Abnahme der SAA – Konzentration beobachten. Die Autoren sahen die Gründe der Konzentrationsabnahme von SAA in der Labilität und Degradation dieses Proteins, welches aus der Veränderung seiner molekularen Konfiguration während der Lagerung resultierte.

Als weiteren Grund für eine mögliche Abnahme der SAA – Konzentration während der Lagerung ist die Art der Messmethode zu nennen. In dieser Arbeit wurde im Labor ein ELISA angewandt und dieser benutzte AK, um das SAA zu messen. Wie in der Studie von HILLSTRÖM et al. (2010) erwähnt wird, besteht die Möglichkeit, dass einige AK des ELISAs die zum Teil degradierte SAA – Proteine erkannten, während andere AK diese nicht binden konnten.

Die mögliche Abnahme der SAA – Konzentration während des Lagerungsvorganges steht im Kontrast zu den Studien von SATOH et al. (1995), ROTHKRANTZ – KOS et al. (2003), CHRISTENSEN et al. (2013) und

SCHWARTZ et al. (2018). Die Aufbewahrung von Serumproben bei -20°C beeinflusst die Konzentration von SAA nach SATOH et al. (1995) nicht. Auch ROTHKRANTZ – KOS et al. (2003) sahen bei der Lagerung von humanem SAA bei -20°C nach 2 Monaten keinen Einfluss auf die Konzentration. SCHWARTZ et al. (2018) verwiesen in ihrer Arbeit auf CHRISTENSEN et al. (2012), in deren Studie Serumproben für eine Validierung eines humanen turbidimetrischen Immunoassays über ein Jahr bei -20°C gelagert wurden.

Abschließend kann festgestellt werden, dass die Lagerung von Serumproben bei -20°C für die Bestimmung von SAA routinemäßig durchgeführt wird. Die hohen SAA – Konzentrationen bei der 2. Messung und die signifikante Korrelation der beiden Messmethoden in der vorliegenden Studie lassen darauf schließen, dass die Lagerung der Serumproben bei -20°C keinen Einfluss auf die SAA – Konzentration hatte.

2. Diskussion der Ergebnisse

2.1. Klinische Parameter

Im Rahmen der präoperativen Allgemeinuntersuchung der Patienten wurden unter anderem die Bestimmung der Herzfrequenz, Atemfrequenz und Temperatur vorgenommen.

Im Mittel hatten die Pferde vor der Kastration eine Herzfrequenz von 40 Schlägen pro Minute ($\text{SD} \pm 6,2$; Median = 36 Schläge pro Minute) und befanden sich damit im Referenzbereich (DIETZ und HUSKAMP, 1999; WISSDORF et al., 2002). Nach der Kastration lag diese sehr knapp über dem genannten Referenzbereich, bei im Mittel 41 Schlägen pro Minute ($\text{SD} \pm 6,7$; Median = 40 Schläge pro Minute).

Die Atemfrequenz lag mit 14 Atemzüge pro Minute ($\text{SD} \pm 4,9$; Median = 12 Atemzüge pro Minute) und 16 Atemzüge pro Minute ($\text{SD} \pm 5,6$; Median = 16 Atemzüge pro Minute) zu beiden Zeitpunkten im Referenzbereich von WISSDORF et al. (2002).

Die Ermittlung der Herzfrequenz kann im Gegensatz zu der Atemfrequenzbestimmung nur mit Körperkontakt, der Auskultation im Bereich der *Regio cubiti*, ermittelt werden. Alternativ wäre die Messung der Pulsfrequenz

beispielsweise an der *Ateria facialis* am Unterkiefer des Pferdes zu nennen, wobei diese mit einer ruhigen Kopfhaltung während der Palpation und einer Unterbrechung des Kauvorgangs des Pferdes verbunden ist und daher auch zu einem direkten Kontakt mit dem Pferd führt. Da die Erfassung der Herzfrequenz allerdings nur nach der Kastration erhöhte Werte zeigte, konnte der Einfluss von Stress aufgrund der Untersuchung in der vorliegenden Studie weitestgehend ausgeschlossen werden.

Bei der Allgemeinuntersuchung nach der Kastration ist der postoperative Schmerz als Grund für die sehr geringgradig erhöhte Herzfrequenz zu nennen (PRITCHETT et al., 2003; LOVE et al., 2009; SANZ et al., 2009; DE GRAUW und VAN LOON, 2016). Dieser kann trotz der Gabe eines Analgetikums zu einer moderaten Erhöhung der Herzfrequenz führen. Zusätzlich könnten individuelle Verhaltensmuster und physische Unterschiede für Schwankungen des Parameters sorgen (MAY, 2007).

Die innere Körpertemperatur lag zu beiden Zeitpunkten innerhalb des Referenzbereiches (t_1 : 37,5°C, SD \pm 0,4, Median = 37,5°C; t_2 : 37,9°C, SD \pm 0,5, Median = 37,8°C), aber interessanterweise konnte eine signifikante Erhöhung der inneren Körpertemperatur zwischen beiden Zeitpunkten festgesellt werden ($p < 0.001$). Mehrere Studien zeigten, dass eine Kastration als operativer Eingriff eine Entzündungsreaktion auslöst und es zu einer Erhöhung der inneren Körpertemperatur kommen kann (SCHUMACHER et al., 1988; DIETZ et al., 1990; MAASSEN und GERHARDS, 2009).

Vier Pferde hatten zum Zeitpunkt vor der Kastration eine geringgradig erhöhte innere Körpertemperatur (Nr. 7, 12, 32 und 44). Bei 2 Pferden (Nr. 7: 38,1°C, Nr. 12: 38,4°C) konnte als mögliche Ursache eine Tetanusimpfung am Tag vor der Untersuchung ermittelt werden. Diese Nebenwirkung wird im Beipackzettel von Equilis® Tetanus (MSD Tiergesundheit, Unterschleißheim, Deutschland) genannt. Auch in der Literatur wird der Anstieg der inneren Körpertemperatur nach Impfungen gegen das Influenza – Virus, Tetanus – Toxin oder equine Herpes – Virus beschrieben (ANDERSEN et al., 2012; DUMRATH, 2017). Bei den anderen beiden Hengsten (Probanden 32 und 44; beide 38,2°C) konnte weder anamnestisch noch klinisch eine mögliche Ursache für die subfebrile Körpertemperatur gefunden werden. Insgesamt konnte der gleiche Verlauf der SAA – Konzentration nach der Kastration (Anstieg) beobachtet werden. Da die innere Körpertemperatur dieser 4

Pferde nur sehr geringgradig erhöht waren und der klinische Allgemeinzustand der Hengste vor der Operation gut war, wurden diese Hengste zu der Kastration zugelassen. Zusätzlich steht in dieser wissenschaftlichen Arbeit der Vergleich der beiden Messmethoden für das SAA im Vordergrund, daher wurden diese Probanden nicht von der Statistik ausgeschlossen.

Bei der Allgemeinuntersuchung 22 bis 26 hr nach der Kastration lag die innere Körpertemperatur im Mittel im Referenzbereich (37.0°C bis 38.0°C). Dennoch fielen einzeln betrachtet 16 der 45 Wallache (35,6%) mit einer erhöhten inneren Körpertemperatur auf, welche im Mittel 38,4°C (SD \pm 0,3; Median = 38,4°C) betrug.

SCHUMACHER et al. (1988), DIETZ et al. (1990) und MAASSEN und GERHARDS (2009) konnten in ihren Studien nachweisen, dass bei Pferden nach einer Kastration mit einem Temperaturanstieg oder mit Fieber zu rechnen ist. In der Studie von SCHUMACHER et al. (1988) zeigten in den folgenden 11 Tagen 11 der 24 Wallache (45,8%) nach der Kastration zumindest einmal eine erhöhte innere Körpertemperatur, welche sich zwischen 38,4 und 40,1°C bewegte. Am Tag nach der Kastration lag die Durchschnittstemperatur bei 38,4°C und damit deutlich über der Durchschnittstemperatur von 37,9°C (SD \pm 0,5), welche in dieser Arbeit gemessen wurde.

DIETZ et al. (1990) berichten, dass in ihrer Studie, in der 47 Hengste kastriert wurden, der durchschnittliche postoperative Temperaturanstieg bis auf 38,6°C erfolgte.

In der Studie von MAASSEN und GERHARDS (2009) waren nur die Pferde, welche *postoperativ* Traumeel® (Biologische Heilmittel Heel GmbH, Baden – Baden, Deutschland) oder keinen Entzündungshemmer verabreicht bekommen haben, mit einer Temperaturerhöhung (Durchschnittstemperatur: 38.1°C) auffällig. Die Pferde der Gruppe, welcher Phenylbutazon (*per os*, 4,4 mg/kg, 2x täglich, Hippopalazon, Aristavet Veterinärspezialitäten GmbH & Co, Ravensburg, Deutschland) verabreicht wurde, wiesen im Durchschnitt keine Erhöhung der inneren Körpertemperatur auf und diese Gruppe stand somit im Einklang zu den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit.

Insgesamt konnte eine Erhöhung der Parameter Herzfrequenz und innere

Körpertemperatur bei den Pferden am Tag nach der Kastration festgestellt werden. Der Anstieg der durchschnittlichen Herzfrequenz ist jedoch sehr gering und kann daher vernachlässigt werden. Stress und postoperativer Schmerz können Gründe für die Erhöhung der Herzfrequenz einzelner Wallache sein. Die innere Körpertemperatur lag im Mittel zu beiden Zeitpunkten im Referenzbereich. Auf Grund der antipyretischen Wirkung der verabreichten Entzündungshemmer (Phenylbutazon oder Flunixin meglumin) ist dieses Ergebnis zu erwarten. Dennoch waren einzelne Pferde mit einer inneren Körpertemperatur oberhalb des Referenzbereiches auffällig. Dies zeigt, dass die Kastration ein durchaus potenter Stimulus für eine Entzündung mit folgender Temperaturerhöhung ist.

2.2. Laboruntersuchungen

2.2.1. SAA – Konzentrationen

Die Bestimmung von SAA wurde mit Hilfe zweier Messmethoden zum Zeitpunkt vor und nach der Kastration durchgeführt. Eine unmittelbare Messung fand mit dem EquiChek™ – SAA am Pferd statt. Die gesammelten Serumproben wurden nach der Probenerhebung im Labor der Maynooth Universität mittels eines ELISA (*Equine SAA, Tridelata Development Ltd., Bray, Ireland*) ausgewertet.

Der erwartete Konzentrationsanstieg von SAA nach der Kastration, welche der Stimulus für die APR war, konnte mit beiden Messmethoden gezeigt und statistisch bestätigt werden. Der Unterschied zwischen den beiden Zeitpunkten war vor und nach der Kastration mittels beider Messmethoden hochsignifikant (EquiChek™ – SAA: $t(48) = 14.8, p < 0.001$ und ELISA: $t(48) = 8.2, p < 0.001$).

Die Erhöhungen der SAA – Konzentrationen nach der Kastration in dieser Arbeit stehen im Einklang mit den Studien über SAA – Werte nach chirurgischen Eingriffen von PEPYS et al. (1989), NUNOKAWA et al. (1993), HULTEN et al. (1999b), POLLOCK et al. (2005) und JACOBSEN et al. (2005). Diese Autoren konnten alle einen deutlichen Anstieg von SAA nach einem chirurgischen Eingriff messen.

Somit konnte der Schnelltest EquiChek™ – SAA den Konzentrationsanstieg nach

der Kastration bei der Mehrzahl der Pferde messen ($85,4\% \approx 1$ Linie, $4,2\% \approx 2$ Linien, $6,3\% \approx 3$ Linien) und spiegelt die Ergebnisse der Labormethode (ELISA) wieder.

POLLOCK et al. (2005) und JACOBSEN et al. (2005) verwendeten in ihren Studien dieselbe Form des ELISAs (*Tridelata Development Ltd., Bray, Ireland*), mit welchem auch in dieser Arbeit die SAA – Konzentrationen im Labor gemessen wurden. Überraschend war die Tatsache, dass die Konzentrationen von SAA zwar einen ähnlichen Verlauf zeigten, aber sehr stark in der Konzentrationshöhe variierten.

POLLOCK et al. (2005) berichteten von Durchschnitts – Konzentrationen von $16,4 \mu\text{g/ml}$ ($\text{SD} \pm 7,1$) am Tag nach der Operation, während aus einer grafischen Darstellung von JACOBSEN et al. (2005) am 3. Tag (72 hr) nach der Kastration sehr hohe Durchschnittswerte im Bereich von $400 \mu\text{g/ml}$ bis circa $600 \mu\text{g/ml}$ beobachtet werden konnten. Im Vergleich dazu lag der SAA – Durchschnittswert in der vorliegenden Studie einen Tag nach der Kastration bei 215 mg/l ($\text{SD}_{12} \pm 259,2$; Median = 122 mg/l).

Sowohl in der vorliegenden Studie als auch in der Studie von POLLOCK et al. (2005) wurden alle Pferde in Allgemeinanästhesie operiert. Nach PEPYS et al. (1989) hat eine Narkose ohne chirurgischen Eingriff keinen Effekt auf die SAA – Konzentration. Es ist also davon auszugehen, dass die Durchführung einer Allgemeinanästhesie nicht der Grund für die Divergenz der beiden Durchschnittswerte sein konnte. Als möglicher Grund kann aufgeführt werden, dass in der Studie von POLLOCK et al. (2005) unter dem Durchschnittswert von SAA verschiedene elektiven Eingriffe (Kastration, prothetische Laryngoplastik, Staphylektomie, Ovariektomie etc.) zusammengefasst wurden. Diese sind mit unterschiedlich hohen Weichteiltraumata verbunden. In der Studie von JACOBSEN et al. (2009) konnte gezeigt werden, dass die SAA – Konzentration die Intensivität verschiedener chirurgische Eingriffe (Gruppe 1: Arthroskopie, Gruppe 2: Laryngoplastik + Ventrikelektomie, Gruppe 3: Laparotomie + Ovariektomie) widerspiegelt.

Die Gründe für die Differenz der Durchschnittswerte von SAA in dieser Arbeit und der Studie von JACOBSEN et al. (2005) können zum einem der Messzeitpunkt (22

bis 26 hr nach der Kastration versus 72 hr nach der Kastration) und zum anderen das Auftreten möglicher Komplikationen nach der Kastration sein. Gegen den 2. Grund (postoperative Komplikationen) spricht jedoch ebenfalls die Studie von JACOBSEN et al. (2005). In dieser wurde zwischen 2 Gruppen von Pferden unterschieden, wobei die 1. Gruppe der Pferde einen unkomplizierten Verlauf nach der Operation mit nur geringgradigen Entzündungsanzeichen lokal an der Operationswunde zeigte, während die 2. Gruppe *postoperativ* deutliche klinische Symptome einer Entzündung entwickelte. Zweiundsiebzig hr nach der Operation konnte bei der Messung jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen in der Höhe der SAA – Konzentration festgestellt werden. Allein der weitere Verlauf der SAA – Konzentration zeigte eine Diskrepanz zwischen den beiden Gruppen. Letztlich konnte kein definitiver Grund für die Unterschiede der Durchschnittswerte nach der Kastration in den 3 Studien ausgemacht werden.

Bei 3 kastrierten Pferden der vorliegenden Studie (Probanden 18, 21, 48; 6,3%) lagen nach der Operation anhand der mit dem Schnelltest gemessenen SAA – Konzentrationen keine Entzündungsanzeichen vor (jeweils 4 Linien). Das Fehlen von Entzündung wurde auch durch die Ergebnisse des ELISAs bestätigt (Proband 18: 5 mg/l; Proband 21: 1 mg/l; Proband 48: 1 mg/l).

Auch in anderen Studien konnte ein ähnliches Phänomen zum einem bei Kühen (JACOBSEN et al., 2004) und zum anderen bei Pferden beobachten werden (JACOBSEN et al., 2006c; JACOBSEN et al., 2008). Bei JACOBSEN et al. (2006c) reagierte ein Pferd auf die Injektion von LPS in das Radiocarpalgelenk mit einer sehr geringen SAA – Konzentrationserhöhung, obwohl die klinischen Entzündungsanzeichen in Form von Lahmheit, Fieber und Tachykardie sehr deutlich ausgeprägt waren und der SAA – Anstieg bei den Vergleichsprobanden deutlich höher ausfiel. Ähnlich verhielt es sich in einer Studie von JACOBSEN et al. (2004), bei der LPS in die Vene von Kühen injiziert wurde und daraufhin eine systemische Entzündungsreaktion folgte. Hier entwickelten einige Individuen eine deutlich schwächer ausgeprägte APR als andere Tiere. JACOBSEN et al. (2006c) benannten diese Tiere als sog. *low responder*. Ein Messfehler des EquiChekTM – SAA konnte in der vorliegenden wissenschaftlichen Arbeit mittels Wiederholungsmessung zum selben Messzeitpunkt durch den Schnelltest weitestgehend ausgeschlossen werden.

Vor der Kastration wurden direkt nach der Blutabnahme mittels des EquiChek™ – SAA bei 5 Pferden eine klinisch signifikante Entzündung festgestellt. Bei den Probanden 7, 10, 12, 27, 37 zeigte sich auf dem Probefenster des EquiChek™ – SAA 1 Linie (siehe dazu auch Punkt 2.6. im Ergebnisteil). Bei 4 dieser Pferde war auch der Wert von SAA, gemessen mit dem ELISA, deutlich erhöht und lag deutlich über dem Referenzbereich der genannten Autoren. Lediglich Proband 12 wies einen SAA – Wert von 13 mg/l auf und befand sich somit nicht eindeutig über den genannten Referenzwerten (siehe dazu auch Tab. 3 in Punkt 4.2. im Literaturteil).

Bei 2 dieser Pferde (Proband 7 und 12) konnte anhand der Anamnese ein möglicher Grund für diese Entzündungsreaktion gefunden werden (Impfung mit dem Tetanus – Toxin). Impfungen sind nach ANDERSEN et al. (2012) ein potenter Stimulator der APR und führen zu Konzentrationserhöhungen von SAA, welche in der Höhe vergleichbar sind mit SAA – Werten, welche nach chirurgischen Eingriffen oder intraartikulären Injektionen mit LPS gemessen werden. Dies steht auch im Einklang mit der Dissertation von DUMRATH (2017), in welcher Pferde nach einer intranasalen Impfung mit attenuiertem equinem Herpesvirus – Impfstoff mit einer Konzentrationserhöhung von SAA reagierten. Proband 7 wies zudem eine deutliche Leukozytose ($13,0 \times 10^3$ WBC/ μ l) und eine geringgradige erhöhte innere Körpertemperatur ($38,1^\circ\text{C}$) auf, während Proband 12 nur eine Erhöhung der inneren Körpertemperatur ($38,4^\circ\text{C}$) zeigte. Insgesamt ist festzustellen, dass die Impfung mit Tetanusvakzinen nicht nur eine starke APR mit einer folgenden SAA – Konzentrationserhöhung zur Folge haben kann, sondern sich auch andere Parameter, wie Leukozyten und die innere Körpertemperatur, infolge der Impfung veränderten. Im weiteren Verlauf blieb Proband 12 nach der Kastration bei einer geringgradig erhöhten inneren Körpertemperatur ($38,4^\circ\text{C}$), während diese von Proband 7 nach der Kastration wieder im Referenzbereich ($37,4^\circ\text{C}$) lag. Auffällig war, dass beide Probanden nach der Kastration eine mittels ELISA gemessene SAA – Konzentration von über 800 mg/l hatten. Diese sehr hohen Werte können als Folge der erneuten Induktion einer APR bewertet werden mit der Folge einer zusätzlichen noch deutlicheren Erhöhung von SAA (CRISMAN et al., 2008; NOLEN – WALSTON, 2015).

Bei den 3 weiteren Probanden (10, 27, 37) mit 1 Linie in der EquiChek™ – SAA – Messung konnte anamnestisch und klinisch kein Grund für die

Konzentrationserhöhung gefunden werden. Die klinische Untersuchung (kein Fieber) und die Bestimmung der Gesamtleukozytenzahl und des Fb – Wertes konnten bei Proband 10 und 27 keine weiteren Anzeichen einer Entzündung feststellen. Dagegen wies Proband 37 geringgradig vergrößerte *Lnn. mandibulares* und einen geringgradig erhöhten Fb – Wert (500 mg/dl) auf. Ein subklinischer Infekt der oberen Atemwege oder die Umstallung (Klinik) wären möglich Ursachen für diese Befunde.

Insgesamt befanden sich diese 5 Hengste bei der Untersuchung vor der Narkose in einem guten klinischen Allgemeinzustand und wurden daher regulär der Operation unterzogen. Da in dieser wissenschaftlichen Arbeit der Vergleich der beiden Messmethoden (EquiChek™ – SAA und ELISA) im Vordergrund steht, wurden diese Pferde nicht aus den statistischen Berechnungen genommen.

Abschließend ist festzuhalten, dass sowohl mit dem EquiChek™ – SAA als auch mit der Labormethode der Verlauf der SAA – Konzentration nach der Kastration, welcher in der Literatur mehrmals beschrieben wurde, zuverlässig gemessen und nachvollzogen werden konnte. Auch Probanden, deren Ergebnis nicht dem eigentlichen Muster (vor der Kastration niedrige Werte, nach der Kastration hohe Werte) entsprachen, konnten mittels dem EquiChek™ – SAA gefunden werden. Die Labormethode konnte bei diesen Probanden ebenfalls entsprechende SAA – Konzentrationen messen. Kritisch anzumerken ist, dass die exakte Höhe der SAA – Konzentration zwischen den beiden Messmethoden nicht komplett übereinstimmte. Zu der Korrelation wird nachfolgend in Punkt 3.1.1. (Hauptfrage) noch genauer Stellung genommen.

2.2.2. Gesamtleukozyten – und Fibrinogenkonzentration

Vor der Kastration waren einzelne Pferde bei der EquiChek™ – SAA – Messung durch eine klinisch signifikante Entzündung auffällig. Daher wurden bei einigen Pferden die Gesamtleukozytenzahl und der Fb – Wert bestimmt, unabhängig von ihrem EquiChek™ – SAA – Ergebnis zum Zeitpunkt vor der Kastration.

Vor der Kastration wurde bei den 13 Hengsten weder eine Leukopenie noch eine Leukozytose festgestellt. Der Mittelwert betrug $8,0 \times 10^3$ WBC/ μ l (SD $\pm 1,3 \times 10^3$; Median = $8,4 \times 10^3$ WBC/ μ) und lag damit im Referenzbereich.

Da in der Regel gesunde Pferde zu einem elektiven Eingriff, wie der Kastration, in eine Klinik gebracht werden, waren diese Ergebnisse zu erwarten. Einzig der Faktor Stress, ausgelöst durch den Transport und den Aufenthalt in einer neuen Umgebung (Klinik), hätten bei diesen Hengsten zu einer kurzfristigen Leukozytose führen können. In Stresssituationen werden marginale Granulozyten – Pools mobilisiert, es erfolgt eine Bluteindickung infolge eines erhöhten Blutdrucks und es kommt zu einer verstärkten Filtration von Plasmaflüssigkeiten in die Kapillargebiete (MAY, 2007).

Nach der Kastration lag der Mittelwert der Gesamtleukozyten bei $8,3 \times 10^3$ WBC/ μ l (SD $\pm 1,8 \times 10^3$; Median = $8,4 \times 10^3$ WBC/ μ) und somit ebenfalls im Referenzbereich der DVG (1982). Dies steht im Einklang mit der Studie von JACOBSEN et al. (2005), in welcher bei kastrierten Pferden keine signifikante Erhöhung der Leukozyten gemessen werden konnte. Die Autoren vermuteten, dass der Grad der Entzündung ausgelöst durch eine Kastration zu gering war, um eine Erhöhung der Leukozyten hervorzurufen. Wie auch schon andere Autoren zogen sie daraus den Schluss, dass dieser klassische Entzündungsparameter im Vergleich zu SAA ein deutlich weniger sensibler Marker für Entzündungen ist (CHAVATTE et al., 1992; STONEHAM et al., 2001; HULTEN und DEMMERS, 2002; JACOBSEN et al., 2005).

Zusätzlich wurde das langsam reagierende Fb bestimmt. Dieser Entzündungswert ist aufgrund seiner einfachen und preisgünstigen Nachweismethoden ein in der Praxis sehr beliebtes APP und wird daher oft in Pferdekliniken zusätzlich zu den Gesamtleukozyten als Entzündungsparameter bestimmt (JACOBSEN et al., 2005; JACOBSEN und KJELGAARD – HANSEN, 2008; CRISMAN et al., 2008). Die Fb – Konzentration beginnt 24 bis 72 hr nach einem entzündlichen Stimulus zu steigen und erhöht sich lediglich um das 1 – 10fache seines Referenzwertes (JACOBSEN und ANDERSEN, 2007; CRISMAN et al., 2008). Chirurgische Eingriffe führen zu einer Induktion der APR und folglich zu einer Erhöhung der Fb – Konzentration im Plasma (ALLEN und KOLD, 1988; POLLOCK et al., 2005).

Zu beiden Zeitpunkten lag der Mittelwert von Fb bei 292 mg/dl (SD ± 118 ; Median_{t1} = 300 mg/dl, Median_{t2} = 200 mg/dl) und war somit innerhalb des Referenzbereiches (JACOBSEN und ANDERSEN, 2007; CRISMAN et al., 2008). Damit konnte keine signifikante Erhöhung der Mittelwerte von Fb zwischen den

beiden Zeitpunkten gemessen werden ($p = 1$).

Der Grund dafür ist das Zeitfenster der Fb – Messung in dieser Studie. Bei der Messung nach der Kastration (22 bis 26 hr) kann keine deutliche Erhöhung für dieses APP erwartet werden (JACOBSEN et al., 2005). In der Literatur wurde die Fb – Messung meist erst 48 bzw. 72 hr nach den chirurgischen Eingriffen vorgenommen (ALLEN und KOLD, 1988; JACOBSEN et al., 2005). Bei JACOBSEN et al. (2005) wurde am 3. Tag nach Kastration nur bei der Gruppe der Kastraten mit geringgradigen Entzündungszeichen und einer unkomplizierten Rekonvaleszenz eine statistisch signifikante Erhöhung der Fb – Konzentration festgestellt. Dagegen konnten DANIEL et al. (2016) in ihrer Studie den ersten Anstieg von Fb 24 hr nach den chirurgischen Eingriffen messen. Dabei ist anzumerken, dass diese Studie sich auf Kolik – Operationen (DANIEL et al., 2016) bezog. Zwei Studien konnten zeigen, dass die Art des chirurgischen Traumas, die Länge der Operation und das betroffene Gewebe den Grad der Erhöhung von Fb nach einer Operation beeinflusst (ALLEN und KOLD, 1988; JACOBSEN et al., 2009). Abdominale Eingriffe verursachen eine deutlich höhere Freisetzung an IL – 6 und damit an APP als Operationen beispielsweise am Bewegungsapparat (CRUICKSHANK et al., 1990; KRAGSBJERG et al., 1995; JACOBSEN et al., 2009). Diese Tatsachen könnten die erhöhten Fb – Werte 24 hr *postoperativ* in der Studie von DANIEL et al. (2016) im Vergleich zu dieser wissenschaftlichen Arbeit erklären.

Im Verlauf dieser Arbeit konnte bei 3 Pferden nach der Kastration eine Erhöhung von Fb festgestellt werden, wobei 2 davon nach der Kastration sehr knapp über dem vorgegebenen Referenzwert (200 – 400 mg/dl) lagen (Proband 38: $t_1 = 400$ mg/dl, $t_2 = 500$ mg/dl, Proband 39: $t_1 = 200$ mg/dl, $t_2 = 500$ mg/dl). Anders als bei SAA, welches nicht durch präoperative Werte beeinflusst wird, besteht bei der postoperativen Messung von Fb eine präoperative Abhängigkeit der Konzentration (JACOBSEN et al., 2009). Da am Tag nach der Kastration die Fb – Konzentration sich in einer Anstiegsphase befindet, können einzelne präoperativ hohe Fb – Werte nach der Kastration eine Konzentration oberhalb ihres Referenzbereiches aufweisen. Kritisch anzumerken ist, dass die Methode der Hitzepräzipitation nach MILLAR (1971), welche in dieser Arbeit verwendet wurde, sehr unempfindlich gegenüber kleinen Konzentrationsveränderungen ist. Es können nur Veränderungen in den Abstufungen von 100 mg/dl und mehr gemessen

werden (ALLEN und KOLD, 1988; BORGES et al., 2007).

Schlussendlich hat sich bei der Bestimmung der beiden Entzündungsparameter Gesamtleukozyten und Fb die Aussage bestätigt, dass SAA ein deutlich empfindlicherer Marker für entzündliche Zustände im Pferd ist als die beiden herkömmlichen Entzündungsmarker und sich damit besser eignet, postoperative Entzündungen und damit mögliche Komplikationen schneller zu entdecken (JACOBSEN et al., 2005; CRISMAN et al., 2008).

3. Beantwortung der Haupt – und Detailfragen aus I

3.1. Hauptfragen

3.1.1. Besteht eine statistisch signifikante Korrelation zwischen den Ergebnissen der beiden Messmethoden, dem EquiChek™ – SAA und dem ELISA?

In der vorliegenden Studie konnte eine signifikante Korrelation zwischen der Messmethode des EquiChek™ – SAA und dem ELISA dargestellt werden.

Zum Vergleich kann die Studie von CANISSO et al. (2015) herangezogen werden, in welcher die SAA – Konzentration sowohl mittels ELISA als auch mittels EquiChek™ – SAA von Stuten mit experimentell induzierter Plazentitis gemessen wurde. Die Messzeitpunkte waren der Tag der Inokulation und dann täglich für 12 Tage bzw. bis zum Zeitpunkt des Aborts. In dieser Studie bestand zwar ein signifikanter Zusammenhang zwischen den mit EquiChek™ – SAA gemessenen SAA – Konzentrationen und der Labormethode, jedoch war die Korrelation nur moderat. Kritisch anzumerken ist, dass in der Studie von CANISSO et al. (2015) gefrorenes und anschließend aufgetautes Plasma für die Messung mit dem EquiChek™ – SAA verwendet wurde, obwohl der Test für Vollblut entwickelt wurde.

Da in der vorliegenden Arbeit die beiden Methoden zu 2 Messzeitpunkten mit jeweils unterschiedlichen SAA – Konzentrationen getestet wurden, kann in dieser wissenschaftlichen Arbeit eine Aussage über die Beziehung der Korrelation und der

Höhe der SAA – Konzentration getroffen werden.

Vor der Kastration wurden weitestgehend niedrige SAA – Werte gemessen. Hier war die Korrelation hochsignifikant ($r = 0.9$, $p < 0.001$) und zeigte damit eine sehr gute Übereinstimmung.

Entsprechend der Literatur (NUNOKAWA et al., 1993; HULTEN et al., 1999; POLLOCK et al., 2005; JACOBSEN et al., 2005) wurden nach der Kastration deutlich erhöhte Konzentrationen von SAA erwartet und diese konnten mit beiden Methoden zum größten Teil bestätigt werden. Die Korrelation bei hohen SAA – Konzentrationen war hier zwischen den beiden Methoden signifikant ($r = 0.5$, $p < 0.03$). Dies zeigt, dass bei niedrigeren SAA – Konzentrationen ein stärkerer Zusammenhang zwischen den beiden Messmethoden besteht als bei hohen Konzentrationen.

Die Vergleichsstudie von CANISSO et al. (2015) lässt keine Rückschlüsse zu, ob ein Unterschied in der Korrelation zwischen niedrigen und hohen SAA – Konzentrationen bestand. Dennoch gaben die Autoren Hinweise darauf, warum in dieser Studie die Korrelation bei höheren SAA – Konzentrationen nur signifikant im Vergleich zu niedrigen SAA – Werten (hochsignifikant) war. Beide Messmethoden in den jeweiligen Studien (EquiChekTM – SAA und Labormethode) wurden mit 2 verschiedenen AK entwickelt. Dies gaben CANISSO et al. (2015) als möglich Ursache für die moderate Korrelation in ihrer Studie an. Es besteht die Möglichkeit, dass die unterschiedlichen AK jeweils unterschiedliche Isoformen von SAA binden und somit messen. Als weiteren Grund kann die schon zuvor erwähnte Degradierung von SAA – Proteinen durch das Einfrieren des Serums genannt werden, welches das Nicht – Erkennen einiger SAA – Proteine zur Folge haben könnte (HILLSTRÖM et al., 2010).

Insgesamt stehen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit in Einklang mit den Ergebnissen von CANISSO et al. (2015). Der EquiChekTM – SAA scheint ein nützlicher Schnelltest zu sein, welcher zuverlässige Angaben bezüglich des Fehlens oder Vorliegens einer Entzündung und im begrenzten Bereich von 200 mg/l über die Höhe der Entzündung bei einem Pferd macht. Dies konnte auch statistisch bestätigt werden.

3.1.2. Ist das Ergebnis des EquiChek™ – SAA als Vorhersagewert (Prädiktor) für den Laborwert des ELISA geeignet?

In der vorliegenden Studie fungierte der Schnelltest sowohl bei niedrigen als auch bei hohen Konzentrationen als hochsignifikanter Prädiktor für die Ergebnisse des ELISA, welcher das Kriterium darstellte. Zeigt der Schnelltest keine Entzündung an, kann mit sehr großer Wahrscheinlichkeit davon ausgegangen werden, dass auch die Labormethode keine oder eine sehr niedrige SAA – Konzentration messen wird. Ist mittels des EquiChek™ – SAA jedoch eine Entzündung vorhanden, ist es sinnvoll eine quantitative SAA – Messung im Labor durchführen zu lassen. Dies dient vor allem der Bestimmung der quantitativen Höhe der SAA – Konzentration und kann daher im Folgenden für den Verlauf der Werte zur Überprüfung der Therapie herangezogen werden.

3.2. Nebenfragen

3.2.1. Ist der EquiChek™ – SAA in der Pferdepraxis praktikabel und sinnvoll einsetzbar?

Nachdem im Punkt 3.1.2. geklärt werden konnte, dass der EquiChek™ – SAA ein zuverlässiger Prädiktor für die SAA – Konzentration ist, stellt sich an diesem Punkt die Frage, wie praktikabel dieser Schnelltest in der Pferdepraxis ist.

Insgesamt kann nach den Erhebungen der Proben und Messungen gesagt werden, dass dieser Schnelltest einfach in der Handhabung und die Durchführung ohne Einarbeitung oder Vorkenntnisse möglich ist. Die Anzahl der Linien auf dem EquiChek™ – SAA ist deutlich erkennbar und durch die mitgelieferte Gebrauchsinformation kann das Ergebnis sicher interpretiert werden. Die für die Messung von SAA notwendigen Pipetten und Lösungen sind in der Lieferung des EquiChek™ – SAA enthalten. Zusätzlich sind nur Materialien für die Blutabnahme notwendig. Ein weiterer großer Vorteil ist die schnelle Durchführung und der Erhalt des Ergebnisses nach circa 10 Minuten. Damit kann der EquiChek™ – SAA zu jeder Zeit im Stall oder auch in der Klinik direkt am Pferd angewendet werden und bietet eine wertvolle Ergänzung zu den klassischen Entzündungsparametern wie

den Gesamtleukozyten und dem Fb.

Dieser Test kann auch prophylaktisch bei der medizinischen Untersuchung der Pferde vor und nach Turnieren bzw. Rennen, vor Tiertransporten oder Trainingseinheiten genutzt werden, um die Allgemeingesundheit zu untersuchen, subklinische Entzündungen oder Infektionen möglichst früh zu erkennen oder den Zustand nach einer Rekonvaleszenzphase zu überprüfen.

Neben der klinischen Allgemeinuntersuchung bietet die Bestimmung von SAA mittels dem EquiChek™ – SAA die Möglichkeit, direkt am Pferd ohne Zeitverzögerung, ohne größeren Kostenaufwand und Anschaffung teurer Geräte eine gute Sicht auf den aktuellen Gesundheitszustand des Pferdes zu erhalten.

3.2.1.1. Ist der Messbereich des EquiChek™ – SAA sinnvoll für die Pferdepraxis?

Zum Schluss stellt sich die Frage, wie sinnvoll die Auswahl der Messbereiche des EquiChek™ – SAA ist.

Der Hersteller teilt den 4 Linien des EquiChek™ – SAA verschiedenen Grade der Entzündung zu. Erscheinen 4 Linien gilt das Pferd als gesund, bei 3 Linien liegt eine milde Entzündung vor, bei 2 eine milde bis moderate Entzündung und bei 1 Linie ist von einer klinisch signifikanten Entzündung auszugehen.

Die exakten Referenzwerte für das SAA sind in der Literatur nicht eindeutig geklärt (siehe dazu auch Punkt 4.2. im Literaturteil), jedoch schließt der gewählte Bereich des EquiChek™ – SAA, in welchem das Pferd als gesund eingestuft wird, die meisten der genannten SAA – Konzentrationen mit ein. Dies konnte auch die vorliegende Arbeit mit der Messung der gesunden Pferde vor der Kastration bestätigen. Die hochsignifikante Übereinstimmung der beiden Messmethoden bei niedrigen SAA – Werten zeigt, dass die Aussagekraft des EquiChek™ – SAA im niedrigem SAA – Konzentrationsbereich sehr hoch ist.

Durch die zahlreichen Studien, welche sich mit dem Entzündungsparameter SAA beim Pferd befasst haben, konnten verschiedene Schwellenwerte für das SAA in verschiedenen klinischen Situationen bestimmt werden.

Zum einen empfohlen STONEHAM et al. (2001) die Bestimmung der SAA – Konzentration dem Sepsis – Score für Fohlen (siehe dazu auch Punkt 4.5.2. im Literaturteil) hinzuzufügen. Der Grenzwert für SAA von 100 mg/l (EquiChek™ – SAA: 2 Linien) könnte einen Hinweis geben, ob eine infektiöse oder nicht – infektiöse Ursache für die SAA – Konzentrationserhöhung verantwortlich ist. Auch HULTEN und DEMMERS (2002) konnten in ihrer Studie zeigen, dass das SAA bei Fohlen in der Unterscheidung von infektiösen (bakterielle Ursache) und nicht – infektiösen (lebensschwache Fohlen) Erkrankungen bei Fohlen den klassischen Entzündungsparametern deutlich überlegen war (siehe dazu auch Punkt 4.5.2. im Literaturteil). Mittels des EquiChek™ – SAA kann diese Differenzierung sofort bei der Erstuntersuchung der Fohlen erfolgen und die Chancen auf eine erfolgreiche Therapie verbessern. Es muss jedoch beachtet werden, dass der Parameter SAA nie allein als Faktor für die Differenzierung von infektiös und nicht – infektiös genutzt werden darf. Sehr viele verschiedene Ursachen (wie Traumen bei der Geburt, Injektionen mit Tetanus – Serum oder Antibiotika) können ebenso zu eine Konzentrationserhöhung von SAA beim Fohlen führen (STONEHAM et al., 2001; JACOBSEN und ANDERSEN, 2007).

Auch für die Unterscheidung zwischen infektiösen und nicht – infektiösen Gelenkentzündungen (siehe dazu auch Punkt 4.5.3. im Literaturteil) konnten ROBINSON et al. (2017) einen Grenzwert für die Differenzierung von nicht – septischen und septischen Gelenken bestimmen. Dieser Grenzwert von SAA lag im Serum bei 61 µg/ml und entspricht 3 Linien im EquiChek™ – SAA. Auch hier darf die SAA – Konzentration nie als alleiniger Parameter für die Diagnostik herangezogen werden. Zusätzliche Weichteilverletzungen oder nicht bekannte Gurnderkrankungen (zB. Tumore) können für einen hohen SAA – Wert im Plasma sorgen.

Dagegen kann der Grenzwert in der synovialen Flüssigkeit (1,14 µg/ml) nicht mit dem EquiChek™ – SAA unterschieden werden, da hier die Abstufungen des Schnelltests nicht ausreichen. Vier Linien schließen eine SAA – Konzentration von unter 25 mg/l ein. Somit kann der Schwellenwert in der synovialen Flüssigkeit nicht von erhöhten SAA – Konzentrationen unterschieden werden.

Die Eigenschaften von SAA machen dieses APP zu einem wichtigen Parameter in der Überwachung von Therapien (*real time monitoring*). Durch die kurze HWZ von

SAA kommt es zu einer nahezu parallelen Abnahme der SAA – Konzentration bei einer erfolgreichen Therapie und Rekonvaleszenz, während die Konzentration von Fb für eine längere Periode auch nach überstandener Krankheit erhöht bleibt und nur langsam abfällt (ALLEN und KOLD, 1988; NUNOKAWA et al., 1993; HULTEN und DEMMERS, 2002; JACOBSEN und ANDERSEN, 2007). Verschiedene Studien zeigen, dass SAA – Konzentrationen sehr hohe Anfangswerte erreichen können (BELGRAVE et al., 2013; LUDWIG et al., 2016; VINER et al., 2017; ANDREASSEN et al., 2017). Diese SAA – Konzentrationen überschreiten deutlich die Grenze von 200 mg/l (1 Linie im EquiChekTM – SAA). Darüber hinaus kann der EquiChekTM – SAA die Konzentrationen von SAA nicht mehr differenzieren. Somit kann der Verlauf von SAA bei Konzentrationen, welche sich deutlich über 200 mg/l befinden und bei denen die folgende Abnahme/Zunahme ebenfalls über dieser Grenze liegt, mittels dieses Schnellmessgeräts nicht verfolgt werden. Um den Verlauf der Konzentration von SAA nach Beginn einer Therapie jedoch zu überprüfen und die Behandlung so gegebenenfalls anzupassen, ist es von großer Bedeutung, eine quantitative Bestimmung von SAA durchzuführen.

Der EquiChekTM – SAA ist insgesamt eine sinnvolle und nützliche diagnostische Ergänzung, um bei Erstuntersuchungen eine Einschätzung über das entzündliche Geschehen bei Pferden zu erlangen. Vor allem bei Untersuchungen von klinisch gesund erscheinenden Pferden (vor Turnieren/Distanzrennen/Transporten) dient der EquiChekTM – SAA als nützliches Schnellmessgerät, um subklinische Entzündungen zu diagnostizieren.

Mittels bestimmter Schwellenwerte kann mit Hilfe des EquiChekTM – SAA zum Teil eine Unterscheidung von infektiös und nicht – infektiös (STONEHAM et al, 2001; ROBINSON et al., 2017; VINER et al., 2017) erfolgen, jedoch muss die klinische Gesamtsituation miteinbezogen werden und die SAA – Konzentration darf nicht als ätiologische Diagnose genutzt werden, da SAA ein unspezifisches Entzündungsprotein darstellt (JACOBSEN und ANDERSEN, 2007).

Für die Überwachung von Therapien bei Erkrankungen eignet sich der EquiChekTM – SAA in der Pferdepraxis daher nur bedingt, da die Abstufungen der Linien in einem zu niedrigen Bereich angesetzt sind. Hierzu ist eine quantitative Bestimmung von SAA angezeigt.

4. Schlussfolgerung

Das Ziel der vorliegenden Studie war die Validierung und Überprüfung der Praktikabilität eines mobilen SAA – Messgerätes (EquiChek™ – SAA). Da das SAA aufgrund seiner kurzen Halbwertszeit sowohl ein idealer Marker für eine Entzündung als auch ein Überwachungsparameter für den therapeutischen Erfolg derselben darstellt, liegt die Notwendigkeit für eine schnelle, direkt am Pferd messbare SAA – Überprüfung nahe. Zur Validierung des mobilen EquiChek™ – SAA wurden Pferde vor und nach Kastration, einem standardisierten operativen Eingriff, beprobt und die jeweilige systemische SAA – Konzentration sowohl mittels standardisierter Labormethodik (ELISA) als auch mittels SAA – Messgerätes (EquiChek™ – SAA) evaluiert.

Sowohl mit dem EquiChek™ – SAA als auch mit dem ELISA konnte ein Anstieg der SAA – Konzentration 22 bis 26 hr nach der Kastration im Vergleich zu der SAA – Konzentration vor der Kastration gemessen werden und stand somit im Einklang mit den Angaben in der Literatur (PEPYS et al., 1989, NUNOKAWA et al., 1993; HULTEN et al., 1999b; POLLOCK et al., 2005).

Es besteht eine signifikante Korrelation zwischen dem Schnellmessgerät EquiChek™ – SAA und der Labormethode (ELISA). Diese ist bei niedrigen SAA – Konzentrationen hochsignifikant und bei hohen Konzentrationen von SAA signifikant.

Zu beiden Zeitpunkten stellt der EquiChek™ – SAA einen hochsignifikanten Prädiktor für die Labormethode dar.

Im Verlauf der vorliegenden Studie konnten weder klinische Parameter (innere Körpertemperatur) noch andere Laborparameter (Gesamtleukozyten, Fb) die Entzündungsreaktion nach der Kastration (22 bis 26 hr nach der Operation) so deutlich aufzeigen wie der Anstieg der SAA – Konzentration. Dies steht im Einklang mit der Literatur, die besagt, dass SAA einen deutlich sensibleren Parameter für Entzündungen darstellt als die herkömmlichen Laborparameter (JACOBSEN et al., 2005; CRISMAN et al., 2008).

Der EquiChek™ – SAA eignet sich als zuverlässiges Schnellmessgerät, um festzustellen, ob ein Pferd eine klinisch signifikante Entzündung aufweist oder nicht. Die Bestimmung der SAA – Konzentration kann dabei unmittelbar am

Patienten, in kurzer Zeit und mit geringem Aufwand an Gerätekosten durchgeführt werden.

Für die Überwachung der Rekonvaleszenzphase kann der EquiChekTM – SAA nur bedingt genutzt werden. Die Abstufung der Linien des EquiChekTM – SAA ist hierbei in einem zu niedrigem SAA – Konzentrationsbereich (< 25 mg/l, 25 – 75 mg/l, 75 – 200 mg/l, > 200 mg/l) angesetzt. Sobald bei der Messung mit dem EquiChekTM – SAA eine erhöhte SAA – Konzentration angezeigt wird, ist eine quantitative Bestimmung der SAA – Konzentration indiziert. Nur mit dem Erhalt von absoluten SAA – Konzentrationen kann das *real time monitoring* in einem Therapie – Verlauf, beispielsweise bei einer antibakteriellen Behandlung, durchgeführt werden.

In der vorliegenden Studie lieferte die Validierung des Schnellmessgerätes EquiChekTM – SAA gute Ergebnisse hinsichtlich seiner Handhabung und Aussagekraft der ermittelten SAA – Werte.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Das Erkennen von Entzündungen, welche sich nicht mit den klassischen Entzündungsparametern (Schmerz, Wärme, Rötung, Schwellung und Funktionsausfall) zeigen, stellt in der Medizin eine Herausforderung dar. Entzündungsparameter im Blut spielen bei der Feststellung von Entzündungen und Überwachung von deren Behandlungen eine wichtige Rolle. Die Akuten Phase Proteine (APP) umfassen eine große Gruppe an Proteinen, wobei sich das Serum Amyloid A (SAA) als ein besonders sensibler Parameter für unspezifische Entzündungen beim Pferd herauskristallisiert hat.

Ziel der vorliegenden Untersuchung war die Validierung des Schnellmessgerätes EquiChek™ – SAA.

Der EquiChek™ – SAA ist nach dem Prinzip eines kompetitiven *Lateral – Flow – Test* (Immunochromatographischer Test) aufgebaut.

Hier bildet ein mit Gold markierter AK aufgrund einer immunologischen Reaktion mit dem nachzuweisenden SAA (AG/Analyt) in der Blutprobe einen AG – AK – Komplex. Dieser Komplex wird mittels einer 2. immunologischen Reaktion zwischen einem anderen Epitop des AG und einem fixierten AK, welcher sich auf den Testlinien befindet, nachgewiesen.

Der EquiChek™ – SAA kann verschiedene SAA – Konzentrationen anzeigen. Die Anzahl der Linien ist umgekehrt proportional zu der Konzentration von SAA. Damit stellen 4 Linien (< 25 mg/l) ein Pferd, welches frei von Entzündungen ist, dar und 1 Linie (> 200 mg/l) zeigt eine klinisch signifikante Entzündung beim Pferd an. Zwei (75 – 200 µmg/l) oder 3 Linien (25 – 75 mg/l) geben eine milde bis moderate bzw. milde Entzündung an.

Für die Validierung wurden die Ergebnisse des Schnellmessgerätes mit den Ergebnissen einer etablierten Messung im Labor (ELISA) verglichen.

Es wurden 48 Hengste, welche im Zeitraum der Studie in der Pferdeklinik Bieberstein einer Kastration unterzogen wurden, in die Studie aufgenommen. Diesen Pferden wurde an 2 Zeitpunkten Blut für die Messung von SAA entnommen. Der 1. Zeitpunkt war vor der Kastration (t_1), wobei hier zum größten

Teil niedrige SAA – Konzentrationen erwartet wurden. Elektive Eingriffe, wie die Kastration, werden in der Regel nur an Pferde mit guter Allgemeingesundheit durchgeführt.

Die 2. Messung fand in einem Zeitraum von 22 bis 26 hr nach der Kastration (t_2) statt, da sich hier die SAA – Konzentration der Literatur nach in der Anstiegsphase befand und damit deutlich erhöhte Werte von SAA zu erwarten waren.

Neben der Messung der SAA – Konzentration wurden die Pferde zu beiden Zeitpunkten einer klinischen Allgemeinuntersuchung unterzogen. Bei einer kleinen Anzahl ($n = 13$) an Pferden wurden zusätzlich die beiden herkömmlichen Entzündungsparameter, Gesamtleukozyten und Fb, vor und nach der Kastration bestimmt.

Sowohl mit dem EquiChekTM – SAA als auch mit dem ELISA konnte eine signifikante Erhöhung der SAA – Konzentration nach der Kastration gemessen werden (EquiChekTM – SAA: $t(48) = 14.8$, $p < 0.001$; ELISA: $t(48) = 8.2$, $p < 0.001$).

Es konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen den beiden Messmethoden, dem EquiChekTM – SAA und dem ELISA, festgestellt werden. Die Übereinstimmung war bei niedrigen SAA – Konzentrationen (vor der Kastration) hochsignifikant ($r = 0.9$, $p < 0.001$) und bei erhöhten Werten (22 bis 26 hr nach der Kastration) von SAA signifikant ($r = 0.5$, $p < 0.03$). Demnach kann mithilfe des Schnellmessgeräts EquiChekTM – SAA der Anstieg der SAA – Konzentration nach einem chirurgischen Eingriff eindeutig dargestellt werden.

Im Gegensatz dazu konnten die durchschnittliche innere Körpertemperatur und die herkömmlichen Entzündungsparameter (Gesamtleukozyten und Fb) die Entzündungsreaktion, welche nach einem chirurgischen Eingriff entsteht, nicht eindeutig aufzeigen.

Diese Untersuchungen zeigten, dass das SAA als *major* APP einen sehr sensiblen Parameter für entzündliche Prozesse darstellt, welcher den herkömmlichen Entzündungsparametern überlegen ist. Das SAA zeigte bei den meisten Pferden nach der Kastration einen Anstieg und wies somit ein Entzündungsgeschehen, ausgelöst durch den chirurgischen Eingriff, nach.

Insgesamt stellt der EquiChekTM – SAA ein zuverlässiges Schnellmessgerät dar,

mit welchem die Abwesenheit oder das Vorliegen einer Entzündung beim Pferd sicher festgestellt werden kann. Durch die unterschiedliche Anzahl der Linien auf dem EquiChekTM – SAA können zudem unterschiedliche Grade einer Entzündung bestimmt werden.

Kritisch anzumerken ist, dass die Verteilung der SAA – Konzentrationen auf 4 Linien zwar eine Einschätzung über das Entzündungsgeschehen des Pferdes zulässt, aber für eine Überwachung von Therapien nur bedingt geeignet ist.

Die Grenze der gemessenen SAA – Konzentration von 200 mg/l (1 Linie im EquiChekTM – SAA) ist zu niedrig angesetzt, da viele Erkrankungen, vor allem bakterielle Infektionen, deutlich höhere Werte annehmen. Das Ansteigen oder das Abnehmen der SAA – Konzentration kann somit bei weiteren Messungen mit dem EquiChekTM – SAA nicht verfolgt werden und so können die Vorteile von SAA (*real time monitoring*) nicht effektiv genutzt werden. Sobald eine klinisch signifikante Entzündung mit dem Schnelltest angezeigt wird, sollte eine zusätzliche quantitative Bestimmung von SAA durchgeführt werden. Demnach lässt das Ergebnis des EquiChekTM – SAA nur eine Unterscheidung zwischen einer vorhandenen oder einer nicht vorhandenen Entzündung zu.

Aufgrund seiner Praktikabilität (*on horse* – Messung, kurze Messzeit und geringe Kosten) wäre dieses Testsystem aber für Routinechecks (z.B. vor Trainingseinheiten, Turnieren, Langzeittransporten) geeignet.

VII. SUMMARY

The detection of subclinical inflammations (without the classical inflammation parameters, such as pain, heat, redness, swelling and loss of function) represents a challenge in medicine. Inflammatory parameters in the blood play an important role in detecting inflammations and monitoring their treatment. Acute phase proteins (APP) comprise a large group of early inflammatory proteins, with serum amyloid A (SAA) as the most sensitive parameter for unspecific inflammation in horses.

The aim of the present study was to validate the EquiChekTM – SAA rapid measurement device.

The EquiChekTM – SAA is based on the principle of a competitive lateral flow test (immunochromatographic graphic test).

An antibody labelled with gold forms an antigen – antibody complex due to an immunological reaction with the SAA (antigen/analyte) to be detected in the blood sample. This complex is detected by a second immunological reaction between another epitope of the antigen and a fixed antibody located on the test lines.

The EquiChekTM – SAA can show different SAA concentrations. The number of lines is inversely proportional to the concentration of SAA. Thus, 4 lines (< 25 mg/l) represent a horse that is free of inflammation and 1 line (> 200 mg/l) indicates a clinically significant inflammation in the horse. Two (75 – 200 mg/l) or 3 (25 – 75 mg/l) lines indicate mild to moderate and mild inflammation, respectively.

For validation, the results of the rapid measurement device (EquiChekTM – SAA) were compared with the results of an established measurement method in the laboratory (ELISA).

Forty-eight stallions that were castrated at the Equine Clinic Bieberstein during the study period were included in the study. Blood samples were taken from these horses at 2 time points for the measurement of SAA. The first time point was set before castration (t_1), where low SAA concentrations were expected. Elective procedures, such as a castration, are usually only performed on horses with good general health. The second measurement took place in a period of 22 to 26 hours after castration (t_2), as the SAA concentration according to the literature was in an

increasing phase and, thus, significantly higher values of SAA were expected. In addition to the measurement of SAA concentrations, the horses were also subjected to a general clinical examination at both time points. For a small number ($n = 13$) of horses, additionally two routine inflammatory parameters, total leukocytes and fibrinogen, were determined before and after castration.

Both, the EquiChekTM – SAA and the ELISA, showed a significant increase in SAA concentration after castration (EquiChekTM – SAA: $t(48) = 14.8$, $p < 0.001$; ELISA: $t(48) = 8.2$, $p < 0.001$).

A significant correlation between the 2 measurement methods, the EquiChekTM – SAA and the ELISA, could be shown. The agreement was highly significant at low SAA concentrations (before castration) ($r = 0.9$, $p < 0.001$) and significant at elevated SAA values (22 to 26 hours after castration) ($r = 0.5$, $p < 0.03$). The EquiChekTM – SAA rapid measurement device can therefore be used to clearly detect an increase in SAA concentration after a surgical procedure.

In contrast, the average internal body temperature and the routine inflammatory parameters (total leukocytes and fibrinogen) could not clearly represent the inflammatory response that occurs after surgery.

These investigations showed that SAA as major APP is a very sensitive parameter for inflammatory processes, which is superior to the routinely used inflammatory parameters. The SAA of most horses showed an increase after castration and thus showed an inflammatory process triggered by the surgical intervention.

Overall, the EquiChekTM – SAA is a reliable rapid measurement method that can be used to determine the absence or presence of general inflammations in horses. Due to the different number of lines on the EquiChekTM – SAA, different degrees of inflammation can also be determined.

It should be critically noted that the distribution of the SAA concentrations within the 4 lines allows an assessment of the inflammatory process of the horse, but has limitations regarding its suitability for monitoring therapies.

The value of the measured SAA concentration of 200 mg/l (1 line in EquiChekTM – SAA) is set too low, as many diseases, especially bacterial infections, assume significantly higher values. The increase or decrease of the SAA concentration cannot be followed by further measurements with the EquiChekTM –

SAA and therefore the advantages of SAA (real time monitoring) cannot be used effectively with this device. As soon as clinically significant inflammation is indicated by the rapid test, an additional quantitative determination of SAA should be performed using a laboratory method. Therefore, the results of the EquiChekTM – SAA only allow a differentiation between the presence or absence of an inflammation.

Due to its practicability (on – horse measurement, short measurement time and low costs), however, this test system is suitable for routine checks (e.g. before training sessions, tournaments, long – term transport).

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

ABERNETHY, T. J. und AVERY, O. T. (1941) The occurrence during acute infections of a protein not normally present in the blood. I. Distribution of the reactive protein in patients' sera and the effect of calcium on the flocculation reaction with C – polysaccharide of pneumococcus. *J Exp Med*; 73 (2), S. 173 – 182.

AGGARWAL, B.B. und NATARAJAN, K. (1996) Tumor necrosis factors: developments during the last decade. *Eur Cytokine Netw*; 7 (2), S. 93 – 124.

AISEN, P. und LISTOWSKY, I. (1980) Iron transport and storage proteins. *Annu Rev Biochem*; 49, S. 357 – 393.

ALAM, T. und PAPACONSTANTINOU, J. (1992) Interaction of acute – phase – inducible and liver – enriched nuclear factors with the promoter region of the mouse alpha 1 – acid glycoprotein gene – 1. *Biochemistry*; 31 (7), S. 1928 – 1936.

ALLEN, B. und ARCHER, R.K. (1971) Haptoglobin in the horse. *Vet Rec*; 89 (4), S. 106 – 109.

ALLEN, B. V. und KOLD, S.E. (1988) Fibrinogen response to surgical tissue trauma in the horse. *Equine Vet J*; 20 (8), S. 441 – 443.

ALSEMGEEST, S.P.M. (1994) Blood concentrations of acute – phase proteins in cattle as markers for disease. PhD Thesis, Utrecht University, Utrecht, the Netherlands, ISBN: 90 – 3 – 0573 – 0

ALSEMGEEST, S.P.M., KALSBECK, H.C., WENSING, T., KOEMAN, J.P., VAN EDEREN, A.M., GRUYS, E. (1994) Concentrations of serum amyloid A (SAA) and haptoglobin (Hp) as parameters of inflammatory disease in cattle. *Vet Quart*; 16 (1), 21 – 23.

ANDERSEN, S.A., PETERSEN, H.H., ERSBØLL, A.K., FALK – RØNNE, J., JACOBSEN, S. (2012) Vaccination elicits a prominent acute phase response in horses. *Vet J*; 191 (2), S. 199 – 202.

ANDREASSEN, S. M., LINDBERG VINTHER, A. M., NIELSEN, S. S., ANDERSEN, P. H., TNIBAR, A., KRISTENSEN, A. T., JACOBSEN, S. (2017) Changes in concentrations of haemostatic and inflammatory biomarkers in synovial fluid after intra – articular injection of lipopolysaccharide in horses. *BMC Veterinary Research* 13:182

ANDREWS, D.A., REAGAN, W.J., DENICOLA, D.B. (1994) Plasma fibrinogen in recognizing equine inflammatory disease. *Comp cont Educ*; 16 (10), S. 1349 – 1356.

ANDUS, T., HEINRICH, P.C., CASTELL, J.C., GEROK, W. (1989) Interleukin – 6: ein Schlüsselhormon der Akute Phase – Reaktion. *Deutsche Medizinische Wochenschrift*; 114, S. 1710 – 1716.

ARMSTRONG, P.B. UND QUIGLEY, J.P. (1999) α 2 – macroglobulin: an evolutionarily conserved arm of the innate immune system. *Dev Comp Immunol*; 23 (4 – 5), S. 375 – 390.

ARMSTRONG, P.B. (2006) Proteases and protease inhibitors: a balance of activities in host – pathogen interaction. *Immunobiology*; 211 (4), S. 263 – 281.

AROSIO, P., INGRASSIA, R., CAVADINI, P. (2009) Ferritins: a family of molecules for iron storage, antioxidation and more. *Biochim Biophys Acta*; 1790 (7), S. 589 – 599.

ASH, R. (1933) Nonspecific precipitins for pneumococci fraction C in acute infections. *J Inf Dis*; 53 (1), S. 89 – 97.

BALTZ, M.L., DE BEER, F.C., FEINSTEIN, A., MUNN, E.A., MILSTEIN, C.P., FLETCHER, T.C., MARCH, J.F., TAYLOR, J., BRUTON, C., CLAMP, J. R., DAVIES, A.J.S., PEPYS, M.B. (1982) Phylogenetic aspects of C – reactive protein and related proteins. *Ann N Y Acad Sci*; 389, S. 49 – 75.

BAUMANN, H. und GAULDIE, J. (1990) Regulation of hepatic acute phase plasma protein genes by hepatocyte stimulating factors and other mediators of inflammation. *Mol Biol Med*; 7 (2), S.147– 159.

BADOLATO, R., WANG, J.M., MURPHY, W.J., LLOYD, A.R., MICHIEL, D.F., BAUSSERMAN, L.L., KELVIN, D.J., OPPENHEIM, J.J. (1994) Serum amyloid A is a chemoattractant: induction of migration, adhesion, and tissue infiltration of monocytes and polymorphonuclear leukocytes. *J Exp Med*; 180 (1), S. 203 – 209.

BADOLATO, R., JOHNSTON, J.A., WANG, J.M., McVICAR, D., XU, L.L., OPPENHEIM, J.J., KELVIN, D.J. (1995) Serum amyloid A induces calcium mobilization and chemotaxis of human monocytes by activating a pertussis toxin – sensitive signaling pathway. *J Immunol*; 155 (8), S. 4004 – 4010.

BADOLATO, R., WANG, J.M., STORNELLO, S.L., NEGRO PONZI, A., DUSE, M., MUSSO, T. (2000) Serum amyloid A is an activator of PMN antimicrobial functions: induction of degranulation, phagocytosis and enhancement of anti – *Candida* activity. *J Leukocyte Biol*; 67 (3), S. 381 – 386.

BALL, B.A., CANISSO, I.F., VICO, A.E., SQUIRES, E.L., TROEDSSON, M.H.T. (2013) Estrogens as potential diagnostic markers in mares with experimentally induced ascending placentitis. *Proceedings. Am Assoc Equine Pract*; 59, S. 527 – 528.

BARTON, M., MORRIS, D., CROWE, N., COLLATOS, C., PRASSE, K.W. (1995) Hemostatic indices in healthy foals from birth to one – month of age. *J Vet Diagn Invest*; 7 (3), S. 380 – 385.

BARTON, M. H., MOORE, J. N., NORTON, N. (1997) Effects of pentoxifylline infusion on response of horses to in vivo challenge exposure with endotoxin. *Am J Vet Res*; 58 (11), S. 1300 – 1307.

BASILE ENG, R.C., FERRAZ, G.C., CARVALHO, M.P., ALBERNAZ, R.M., ARAÚJO, R.A., FAGLIARI, J.J., QUEIROZ – NETO, A. (2013) Physiological concentrations of acute – proteins and immunoglobulins in equine synovial fluid. *J Equine Vet Sci*; 33 (3), S. 201 – 204.

BAUMANN, H. und GAULDIE, J. (1994) The acute phase response. *Immunol Today*; 15 (2), S. 74 – 80.

BELGRAVE, R.L., DICKEY, M.M., ARHEART, K.L., CRAY, C. (2013) Assessment of serum amyloid A testing of horses and its clinical application in a specialized equine practice. *J Am Vet Med Assoc*; 243 (1), S. 113 – 119.

BENDITT, E.P. und MEEK, R.L. (1989) Expression of the third member of the serum amyloid A gene family in mouse adipocytes. *J Exp Med*; 169 (5), S. 1841 – 1846.

BERG, L.C., THOMSEN, P.D., ANDERSEN, P.H., JENSEN, H.E., JACOBSEN, S. (2011) Serum amyloid A is expressed in histologically normal tissues from horses and cattle. *Vet Immunol Immunopathol*; 144 (1 – 2), S. 155 – 159.

BERGER, E.G., ALPERT, E., SCHMID, K., ISSELBACHER, K.J. (1977) Immunohistochemical localization of alpha1 – acid – glycoprotein in human liver parenchymal cells. *Histochemistry*; 51 (4), S. 293 – 296.

BERTONE, A.L. (1999) Update on infectious arthritis in horses. *Equine Vet Educ*; 11 (3), S. 143 – 152.

BIRAN, H., FRIEDMAN, N., NEUMANN, L., PRAS, M., SHAINKIN – KESTENBAUM, R. (1986) Serum amyloid A (SAA) variations in patients with cancer: correlation with disease activity, stage, primary site, and prognosis. *J Clin Pathol*; 39, S. 794 – 797.

BORGES, S. A., DIVERS, J. T., STOKOL, T. and MOHAMMED, O. H. (2007) Serum iron and plasma fibrinogen concentrations as indicators of systemic inflammatory diseases in horses. *J Vet Intern Med*; 21 (3), S. 489 – 494.

BORNSTEIN, D. L. (1982) Leukocytic Pyrogen: A major mediator of the acute phase reaction. *Ann N Y Acad Sci*; 389, S. 323 – 337.

BOUDREAU, F., BARDATI, T., NADEAU, A., BLOUIN, R., ASSELIN, C. (1997) Differential expression of acute phase response protein genes during inflammation of the rat intestine. *Gastroenterology*; 112, A940.

BREWER, B.D. und KOTERBA, A. (1988) The development of a scoring system for the early diagnosis of equine neonatal sepsis. *Equine Vet J*, 20 (1), S. 18 – 22.

BROADLEY, C. und HOOVER, R.L. (1989) Ceruloplasmin reduces the adhesion and scavenges superoxide during the interaction of activated polymorphonuclear leukocytes with endothelial cells. *Am J Pathol*; 135 (4), S. 647 – 655.

BRUGMANS, F., VENNER, M., MENZEL, D., MISCHKE, R. (1998) Messung der Fibrinogenkonzentration beim Pferd mit den Hitze – Präzipitationsmethoden nach Schalm und Millar. *Dtsch tierärztl Wschr*; 105 (2), S. 58 – 61.

CALIENDO, V., MCKINNEY, P., BAILEY, T., KINNE, J., WERNERY, U. (2013) Serum Amyloid A as an indicator of health status in falcons. *J Avian Med Surg*; 27 (2), S. 83 – 89.

CAMPBELL, M.D., BELLAMY, E. C., SEARCY, G.P. (1981) Determination of plasma fibrinogen concentration in the horse. *Am J Vet Res*; 42 (1), S. 100 – 104.

CAMPOS, S.P., WANG, Y., KOJ, A., BAUMANN, H. (1994) Insulin cooperates with IL – 1 in regulating expression of alpha 1 – acid glycoprotein gene in rat

hepatoma cells. Cytokine; 6 (5), S. 485 – 492.

CANISSO, I.F., BALL, B.A., CRAY, C., TROEDSSON, M.H.T. (2012a) Serum amyloid A and haptoglobin concentrations in pregnant mares with experimentally induced ascending placentitis. In Proceedings. Am Assoc Equine Pract; 58, S. 524 – 525.

CANISSO, I.F., BALL, B.A., TROEDSSON, M.H.T., KLEIN, C., STANLEY, S.D. (2012b) Diagnostic markers for experimentally induced ascending placentitis in mares. Proceedings XI International Symposium on equine infectious diseases. J Equine Vet Sci; 32 (10), S 73.

CANISSO, I.F., BALL, B.A., SCOGGING, K.E., SQUIRES, E.L., TROEDSSON, M.H.T. (2013) Alpha – fetoprotein is highly expressed and appears to be increased in the foetal fluids of mares with placentitis. In Proceedings. European society for domestic animal reproduction. Reprod Domest Anim; 48(suppl S1), S. 116.

CANISSO, I.F., BALL, B.A., CRAY, C., WILLIAMS, N.M., SCOGGIN, K.E., DAVOLLI, G.M., SQUIRES, E.L., TROEDSSON, M.H. (2014) Serum amyloid A and haptoglobin concentrations are increased in plasma of mares with ascending placentitis in the absence of changes in peripheral leukocyte counts or fibrinogen concentration. Am J Reprod Immunol; 72 (4), S. 376 – 385.

CANISSO, I.F., BALL, B.A., CRAY, C., SQUIRES, E. L., TROEDSSON, M. H. (2015) Use of a qualitative horse – side test to measure serum amyloid A in mares with experimentally induced ascending placentitis. J Equine Vet Sci; 35 (1), S. 54 – 59.

CARTMELL, T., POOLE, S., TURNBULL, A. V., ROTHWELL, N. J., LUHESHI, G. N. (2000) Circulating interleukin – 6 mediates the febrile response to localised inflammation in rats. J Physiol; 526 (3), S. 653 – 661.

CASTELL, J.V., GEIGER, T., GROSS, V., ANDUS, T., WALTER, E., HIRANO, T., KISHIMOTO, T., HEINRICH, P.C. (1988) Plasma clearance, organ distribution and target cells of interleukin – 6/hepatocyte – stimulating factor in the rat. Eur J Biochem; 177, S. 357 – 361.

CAZZOLA, M., BERGAMASCHI, G., DEZZA, L., AROSIO, P. (1990) Manipulations of cellular iron metabolism for modulating normal and malignant cell proliferation: achievements and prospects. Blood; 75 (10), S. 1903 – 1919.

CERMAK, J., KEY, N.S., BACH, R.R., BALA, J., JACOB, H.S., VERCELLOTTI, G.M. (1993) C - Reactive Protein induces human peripheral blood monocytes to synthesize tissue factor. Blood; 82 (2), S. 513 – 520.

CERÓN, J.J., MARTINEZ – SUBIELA, S., OHNO, K., CALDIN., M. (2008) A seven – point plan for acute phase protein interpretation in companion animals. Vet J; 177 (1), S. 6 – 7.

CHAFFIN, M.K., COHEN, N.D., MARTENS, R.J. (2003) Evaluation of equine breeding farm characteristics as risk factors for development of Rhodococcus equi pneumonia in foals. J Am Vet Med Assoc; 222 (4), S. 467 – 475.

CHAVATTE, P.M., PEPYS, M.B., ROBERST, B., OUSEY, J.C.,

McGLADDERY, A.J., ROSSDALE, P.D. (1992) Measurement of serum amyloid A protein (SAA) as an aid to differential diagnosis of infection in newborn foals. *Equine Inf Dis*; VI, S. 33 – 38.

CHENG, N., HE, R., TIAN, J., YE, P. P., YE, R. D. (2008) Cutting edge: TLR2 is a functional receptor for acute-phase serum amyloid A. *J Immunol*; 181 (1), S. 22 – 26.

CHRISTENSEN, M.B., SORESEN, J.C., JACOBSEN, S., KJELGAARD – HANSEN, M. (2013) Investigation of the solubility and the potentials for purification of serum amyloid A (SAA) from equine acute phase serum – a pilot study. *BMC Res Notes*; 6, S. 152.

CHRISTENSEN, M., JACOBSEN, S., ICHIYANAGI, T., KJELGAARD – HANSEN, M. (2012) Evaluation of an automated assay based on monoclonal anti-human serum amyloid A (SAA) antibodies for measurement of canine, feline, and equine SAA. *Vet J*; 194 (3), S. 332 – 337.

CHRISTOFFERSEN, M., BAAGOE, D.C., JACOBSEN, S., BOJESSEN, M. A., PETERSEN, R.M., LEHN – JENSEN, H. (2010) Evaluation of the systemic acute phase response and endometrial gene expression of serum amyloid A and pro – and anti – inflammatory cytokines in mares with experimentally induced endometritis. *Vet Immunol Immunopathol*; 138 (1 – 2), S. 95 – 105.

CHRISTOFFERSEN, M., WOODWARD, E., BOJESSEN, A.M., JACOBSEN, S., PETERSEN, M.R., TROEDSSON, M.H.T., LEHN-JENSEN, H. (2012) Inflammatory response to induced infectious endometritis in mares resistant or susceptible to persistent endometritis. *BMC Vet Res*; 8 (1), S. 41

CID, M.C., GRANT, D.S., HOFFMAN, G.S., AUERBACH, R., FAUCI, A.S., KLEINMAN, H. (1993) Identification of haptoglobin as an angiogenic factor in sera from patients with systemic vasculitis. *J Clin Invest*; 91 (3), S. 977 – 985.

CLAUSS, A. (1957) Gerinnungsphysiologische Schnellmethode zur Bestimmung des Fibrinogens. *Acta Haematologica*; 17 (4), S. 237 – 246.

COCCO, E., BELLONE, S., EL SAHWI, K., CARGNELUTTI, M., CASAGRANDE, F., BUZA, N., TAVASSOLI, F.A., SIEGEL, E.R., VISINTIN, I., RATNER, E., SILASI, D.A., AZODI, M., SCHWARTZ, P.E., RUTHERFORD, T.J., PECORELLI, S., SANTIN, A.D. (2009) Serum amyloid A (SAA): a novel biomarker for uterine serous papillary cancer. *Br J Cancer*; 101 (2), S. 335 – 341.

COCCO, E., BELLONE, S., EL SAHWI, K., CARGNELUTTI, M., BUZA, N., TAVASSOLI, F.A., SCHWARTZ, P.E., RUTHERFORD, T.J., PECORELLI, S., SANTIN, A.D. (2010) Serum amyloid A: a novel biomarker for endometrial cancer. *Cancer*; 116 (4), S. 843 – 851.

COHEN, N.D., CHAFFIN, M.K. VANDENPLAS, M.L., EDWARDS, R.F., NEVILL, M., MOORE, J.N., MARTENS, R.J. (2005) Study of serum amyloid A concentrations as a means of achieving early diagnosis of *Rhodococcus equi* pneumonia. *Equine Vet J*; 37 (3), S. 212 – 216.

CONTINHO DA SILVA, M.A., CANISSO, I.F., MACPHERSON, M.L.,

JOHNSON, A.E.M., DIVERS, T.J. (2013) Serum amyloid A concentration in healthy periparturient mares and mares with ascending placentitis. *Equine Vet J*; 45 (5), S. 619 – 624.

COUSINS, R.J. und SWERDEL, M.R. (1985) Ceruloplasmin and metallothionein induction by zinc and 13 – cis – retinoic in rats with adjuvant inflammation. *Proc Soc Exp Biol Med*; 179 (2), S. 168 – 172.

CRAY, C., ZAIAS, J., ALTMAN, N.H. (2009) Acute Phase Response in Animals: A Review. *Comp Med*; 59 (6), S. 517 – 526.

CRAY, C. (2012) Acute Phase Proteins in Animals. *Prog Mol Biol Transl Sci*; 105, S. 113 – 150.

CRAY, C und BELGRAVE, R.L. (2014) Haptoglobin quantitation in serum samples from clinically normal and clinically abnormal horses. *J Equine Vet Sci*; 34 (2), S. 337 – 340.

CRISMAN, M.V., SCARRATT, W.K., ZIMMERMAN, K.L. (2008) Blood proteins and inflammation in the horse. *Vet Clin Equine Pract*; 24 (2), S. 285 – 297.

CRUICKSHANK, A.M., FRASER, W.D., BURNS, H.J.G., VAN DAMME, J., SHENKIN, A. (1990) Response of serum interleukin – 6 in patients undergoing elective surgery of varying severity. *Clin Sci (Lond)*; 79 (2), S. 161 – 165.

CYWINSKA, A., GORECKA, R., SZARSKA E, WITKOWSKI L, DZIEKAN, P., WYSZYNSKA, Z., SCHOLLENBERGER, A. (2008) The effect of endurance ride on serum concentration of haptoglobin and serum amyloid A in horses. XIII Congress of Polish Society of Experimental and Clinical Immunology. Krakow., *Centr Eur J Immunol*; 33 (I), S. 169.

CYWINSKA, A., GORECKA, R., SZARSKA E, WITKOWSKI L, DZIEKAN, P, SCHOLLENBERGER, A. (2010) Serum amyloid A level as a potential indicator of the status of endurance horses. *Equine Vet J Suppl*; 42 (Suppl. 38), S. 23 – 27.

CYWINSKA, A., SZARSKA, E., KOWALSKA, A., OSTASZEWSKI, P., SCHOLLENBERGER, A. (2011) Gender differences in exercise – induced intravascular haemolysis during race training in thoroughbred horses. *Res Vet Sci*; 90 (1), S. 133 – 137.

CYWINSKA, A., SZARSKA, E., GORECKA, R., WITKOWSKI, L., HECOLD, M., BEREZNOWSKI, A., SCHOLLENBERGER, A., WINNICKA, A. (2012) Acute phase protein concentrations after limited distance and long distance endurance rides in horses. *Res Vet Sci*; 93 (3), S. 1402 – 1406.

DANIEL, A.J., LEISE, B.S., BURGESS, B.A. MORLEY, P.S., CLONINGER, M., HASSEL, D.M. (2016) Concentrations of serum amyloid A and plasma fibrinogen in horses undergoing emergency abdominal surgery. *Vet Emerg Crit Care*; 26 (3), S. 344 – 351.

DANTZER, R. (2001) Cytokine – induced sickness behavior: where do we stand? *Brain Behav Immun*; 15 (1), S. 7 – 24.

DARGEL, R. (1995) Kapitel: Ätiopathogenese der Entzündung; Entzündung: Grundlagen - Klinik - Therapie. Ullstein Mosby GmbH & Co.KG, Berlin/Wiesbaden

DIETZ, O., KEHNSCHERPER, G., HAHN, K. (1990) Kastration des Hengstes und Ebers mit Resektion des Skrotums und Wundverschluß. Mh Vet Med; 45, S. 690 – 692.

DIETZ, O. und HUSKAMP, B. (1999) Handbuch Pferdepraxis. 3. Auflage, Stuttgart, F. Enke Verlag.

DINARELLO, C.A. (1994) The interleukin – 1 family: 10 years of discovery. FASEB J; 8 (15), S. 1314 – 1325.

DONDI, F., LUKACS, R.M., GENTILINI, F., RINNOVATI, R., SPADARI, A., ROMAGNOLI, N. (2015) Serum amyloid A, haptoglobin, and ferritin in horses with colic: Association with common clinicopathological variables and short – term outcome. Vet J; 205 (1), S. 50 – 55.

DU CLOS, T.W. und MOLD, C. (2001) The role of C – reactive protein in the resolution of bacterial infection. Curr Opin Infect Dis; 14 (3), S. 289 – 293.

DUGGAN, V., HOLYOAK, G.R., MAC ALLISTER, C.G., CONFER, A. W. (2007) Influence of induction of parturition on the neonatal acute phase response in foals. Theriogenology, 15, 67 (2), S. 372 – 381.

DUMRATH, C.A.C. (2017) Die Immunantwort von regelmäßig geimpften Maultieren und Pferden nach intranasaler Verabreichung eines attenuierten Equiden Herpesvirus – 1. Disserationsschrift.

DUTHIE, S., ECKERSALL, P.D., ADDIE, D.D., LAWRENCE, C.E., JARRETT, O. (1997) Value of α 1 – acid glycoprotein in the diagnosis of feline infectious peritonitis. Vet. Rec., 20, 141 (12), S. 299 – 303.

DVG [DEUTSCHE VETERINÄRMEDIZINISCHE GESELLSCHAFT (1982)]. Arbeitswerte in der Laboratoriumsdiagnostik beim Pferd. Tierärztl Umsch; 37, S. 47 – 48.

EKLUND, K.K., NIEMI, K., KOVANEN, P.T. (2012) Immune functions of serum amyloid A. Crit Rev Immunol; 32 (4), S. 335 – 348.

EL – DEEB, W.M. und EL – BAAHR, S.M. (2014) Selected biochemical indicators of equine rhabdomyolysis in arabian horses: Acute phase proteins and trace elements. J Equine Vet Sci; 34 (4), S. 484 – 488.

EL – DEEB, W., JACOB, O, FAYEZ, M., ELGIOUSHY, M., SHAWAF, T., IBRAHIM, A. (2018) Acute phase proteins, interleukin – 6, tumor necrosis factor, nitric oxide and oxidative stress markers in horses with cutaneous habronemosis under field condition. Vet Parasit; 255, S. 20 – 25.

FAGLIARI, J.J., McCLENAHAN, D., EVANSON, O.A., WEISS, D.J. (1998) Changes in plasma protein concentrations in ponies with experimentally induced alimentary laminitis. Am J Vet Res; 59 (10); S. 1234 – 1237.

FALLON, K.E. (2001) The acute phase response and exercise: the ultramarathon as prototype exercise. *Clin J Sport Med*; 11 (1), S. 38 – 43.

FAZIO, F., ASSENZA, A., TOSTO, F., CASELLA, S., PICCIONE, G., CAOLA, G. (2010) Modifications of some acute phase proteins and the white blood cell count in thoroughbreds during training. *Vet Rec*; 167 (10), S. 370 – 373.

FEIGE, K., KASTNER, S.B., DEMPFLER, C.E., BALESTRA, E. (2003) Changes in coagulation and markers of fibrinolysis in horses undergoing colic surgery. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med*; 50 (1), S. 30 – 36.

FEUTZ, M.M., COUETIL, L.L., RILEY, C.P., ZHANG, X., ADAMEC, J., RASKIN BACKGROUND, R.E. (2015) Secretoglobulin and Transferrin expression in bronchoalveolar lavage fluid of horses with chronic respiratory disease. *J Vet Intern Med*; 29 (6), S. 1692 – 1699.

FIELDING, C.L., MAGDESIAN, K.G., RHODES, D.M., MEIER, C.A., HIGGINS, J.C. (2009) Clinical and biochemical abnormalities in endurance horses eliminated from competition for medical complications and requiring emergency medical treatment: 30 cases (2005 – 2006). *J Vet Emerg Crit Care*; 19 (5), S. 473 – 478.

FLAMINIO, M.J.B.F., NYDAM, D.V., MARQUIS, H., MATYCHAK, M.B., GIGUÉRE, S. (2009) Foal monocyte – derived dendritic cells become activated upon *Rhodococcus equi* infection. *Clin Vaccine Immunol*; 16 (2), S. 176 – 183.

FOURNIER, T., MEDJOUBI, N.N., PORQUET, D. (2000) Alpha – 1 – acid glycoprotein. *Biochem Biophys Acta*; 1482 (1 – 2), S. 157 – 171.

FRIEDRICH, K.R., THOMAS, C., PLIER, M., ANDREWS, G.A., CHAVEY, P.S., YOUNG, K.M. (2010) Evaluation of serum ferritin as a tumor marker for canine histiocytic sarcoma. *J Vet Intern Med*; 24 (4), S. 904 – 911.

FUKUSHIMA, K., OGAWA, H., KITAYAMA, T., YAMADA, T., NAITO, H., FUNAYAMA, Y., MATSUNO, S., SASAKI, I. (2002) Epithelial induction of serum amyloid A in experimental mucosal inflammation. *Dig Dis Sci*; 47 (7), S. 1438 – 1446.

GABAY, C. und KUSHNER, I. (1999) Acute – phase proteins and other systemic response to inflammation. *N Engl J Med*; 340 (6), S. 448 – 454.

GAMBLE, L., BAGBY, G. J., QUINTON, L. J., HAPPEL, K. I., MIZGERD, J. P., ZHANG, P., NELSON, S. (2009) The systemic and pulmonary lipopolysaccharide binding protein response to intratracheal lipopolysaccharide. *Shock* 31 (2), S. 212 – 217.

GANAPATHI, M.K., RZEWNICKI, D., SAMOLS, D., JIANG, S.L., KUSNER, I. (1991) Effect of combinations of cytokines and hormones on synthesis of serum amyloid A and C – reactive protein in Hep 3B cells. *J Immunol*; 147 (4), S. 1261 – 1265.

GANGUR, V., BIRMINGHAM, N. P., THANESVORAKUL, S. (2002) Chemokines in health and disease. *Vet Immunol. Immunopathol.*, 86 (3 – 4), S. 127 – 136.

GREHAN, S., UHLAR, C.M., SIM, R.B., HERBERT, J., WHITEHEAD, A.S. (1997) Expression of a biologically active recombinant mouse IL – 1 receptor antagonist and its use in vivo to modulate aspects of the acute phase response. *J Immunol*; 159 (1), S. 369 – 378.

GATT, M.E., URIEL – SHOVAL, S., PRECIADO – PATT, L., FRIDKIN, M., CALCO, S., AZAR, Y., MATZNER, Y. (1998) Effect of serum amyloid A on selected in vitro functions of isolated human neutrophils. *J Lab Clin Med*; 132(5), S. 414 – 420.

GIGUERE, S., HERNANDEZ, J., GASKIN, J., MILER, C., BOWMAN, J.L. (2003) Evaluation of white blood cell concentration, plasma fibrinogen concentration, and an agar gel immunodiffusion test for early identification of foals with *Rhodococcus equi* pneumonia. *J Am Vet Med Assoc*; 222 (6), S. 775 – 781.

GONNERMAN, W.A., LIM, M., SIPE, J.D., HAYES, K. C., CATHCART, E. S. (1996) The acute phase response in Syrian hamsters elevates apolipoprotein serum amyloid A (apoSAA) and disrupts lipoprotein metabolism. *Amyloid: Int J Exp Clin Invest*; 3 (4), S. 261 – 269.

VAN GOOL, J., BOERS, W., SALA, M., LADIGES, N.C.J.J. (1984) Glucocorticoids and catecholamines as mediators of acute – phase proteins especially rat α – macrofoetoprotein. *Biochem J*; 220 (1), S. 125 – 132.

GORDON, A.H. und KOY, A. (1985) The acute phase response to injury and infection: the roles of interleukin 1 and other mediators. Elsevier, Amsterdam, ISBN: 0444 – 80648 – 2.

DE GRAUW, J.C. und VAN LOON, J.P.A.M. (2016) Systematic pain assessment in horses. *Vet J*; 209, S. 14 – 22.

GRUOL, D. L. and NELSON, T. E. (1997) Physiological and pathological roles of interleukin – 6 in the central nervous system. *Mol Neurobiol* 15 (3), S. 307 – 339.

GRUYS, E., OBWOLO, M.J., TOUSSAINT, M.J.M. (1994) Diagnostic significance of the major acute phase proteins in veterinary clinical chemistry: a review. *Vet Bull*; 64, S. 1009 – 1018.

GRUYS, E., TOUSSAINT, M.J.M., LANDMAN, W.J.M., TIVAPASI, M., CHAMANZA, R., VAN VEEN, L. (1999) Infection, inflammation and stress inhibit growth. Mechanisms and non – specific assessment of the processes by acute phase proteins. In: Wensing, T. (Ed.), *Production Diseases in Farm Animals*. 10th International Conference, 1998. Wageningen Press, Wageningen, S.72 – 87. ISBN: 90 – 74134 – 60 – 2.

GRUYS, E., TOUSSAINT, M.J.M., NIEWOLD, T.A., KOOPMANS, S.J. (2005) Acute phase reaction and acute phase proteins. *J Zhejiang Univ Sci B*; 6 (11), S. 1045 – 1056.

GUO, J.T., ALDRICH, C.E., MASON, W.S., PUGH, J.C. (1996) Characterization of serum amyloid A protein mRNA expression and secondary amyloidosis in the domestic duck. *Proc Natl Acad Sci USA*; 93 (25), S. 14548 – 14553.

GUTFELD, O., PRUS, D., ACKERMAN, Z., DISHON, S., LINKE, R.P. LEVIN, M., URIELI SHOVAL, S. (2006) Expression of serum amyloid A, in normal,

dysplastic, and neoplastic human colonic mucosa: implication for a role in colonic tumorigenesis. *J Histochem Cytochem*; 54 (1), S. 63 – 73.

HALTMAYER, E., SCHWENDENWEIN, I., LICKA, T.F. (2017) Course of serum amyloid A (SAA) plasma concentrations in horses undergoing surgery for injuries penetrating synovial structures, an observational clinical study. *BMC Vet Res*; 13 (137), S. 1 – 11.

HARI – DASS, R., SHAH, C., MEYER, D.J., RAYNES, J.G. (2005) Serum amyloid A protein binds to outer membrane protein A of gram – negative bacteria. *J Biol Chem*; 280 (19), S. 18562 – 18567.

HARRISON, P.M. und AROSIO, P. (1996) The ferritins: molecular properties, iron storage function and cellular regulation. *Biochim Biophys Acta*, 1275 (3), S. 161 – 203.

HE, R., SANG, H., YE, R.D. (2002) Serum amyloid A induces IL – 8 secretion through a G protein – coupled receptor, FPRL1/LXA4R. *Blood*; 101 (4), S. 1572 – 1581.

HEINRICH, P.C., CASTELL, J.V., ANDUS, T. (1990) Interleukin – 6 and the acute phase response. *Biochem J*; 265 (3), S. 621 – 636.

HILLSTRÖM, A., TVEDTEN, H., LILLIEHÖÖK, I. (2010) Evaluation on an in – clinic serum amyloid A (SAA) assay and assessment of the effects of storage on SAA samples. *Acta Vet Scand*. 52 (8), S. 1 – 6.

HIRAKURA, Y., CARRERAS, I., SIPE, J.D., KAGAN, B.L. (2002) Channel formation by serum amyloid A: a potential mechanism for amyloid pathogenesis and host defense. *Amyloid*; 9 (1), S. 13 – 23.

HOBBO, S., NIWA, H., ANZAI, T. (2007) Evaluation of serum amyloid A and surfactant protein D in sera for identification of the clinical condition of horses with bacterial pneumonia. *J Vet Med Sci*; 69 (8), S. 827 – 830.

HOFFMAN, J.S. und BENDITT, E.P. (1983) Plasma clearance kinetics of the amyloid – related high density lipoprotein apoprotein serum amyloid protein (apoSAA), in the mouse. Evidence for rapid apoSAA clearance. *J Clin Invest*; 71 (4), S. 926 – 934.

HÖFNER, M.C., FOSBERY, M.W., ECKERSALL, P.D., DONALDSON, A.I. (1994) Haptoglobin response of cattle infected with foot and mouth disease virus. *Res Vet Sci*; 57 (1), S. 125 – 128.

HOLMBERG, C.G. und LAURELL, C.B. (1948) Investigations in serum copper. *Acta Chem Scand*; 2, S. 550 – 556.

HONG, C.B., DONAHUE, J.M., GILES, R.C., PETRITES – MURPHY, M.B., POONACHAR, K.B., ROBERTS, A.W., SMITH, B.J., TRAMONTIN, R.R., TUTTLE, P.A., SWERCZEK, T.W. (1993) Etiology and pathology of equine placentitis. *J Vet Diagn Invest*; 5 (1), S. 56 – 63.

HOUIJBERG, E.H., VAN DEN HOVEN, R., TICHY, A., SCHWENDENWEIN, I. (2014) Diagnostic and predictive capability of routine laboratory tests for the diagnosis and staging of equine inflammatory disease. *J Vet Intern Med*; 28 (5), S. 1587 – 1593.

HULTEN, C., SLETTEN, K., BRUUN FOYN, C., MARHAUG, G. (1997) The acute phase serum amyloid A protein (SAA) in the horse: isolation and characterization of three isoforms. *Vet Immunol Immunopathol*; 57 (3 – 4), S. 215 – 227.

HULTEN, C., SANDGREN, B., SKIOLDEBRAND, E., KLINGENBORG, B., MARHAUG, G., FORSBERG, M. (1999a) The acute phase protein serum amyloid A (SAA) as an inflammatory marker in equine influenza virus infection. *Acta Vet Scand*; 40 (4), S. 323 – 333.

HULTEN, C., TULAMO, R.M., SUOMINEN, M., BURVALL, K., MARHAUG, G., FORSBERG, M. (1999b) A non – competitive chemiluminescence enzyme immunoassay for the equine acute phase protein serum amyloid A (SAA) — a clinically useful inflammatory marker in the horse. *Vet Immunol Immunopathol*; 68 (2 – 4), S. 267 – 281.

HULTEN, C., GRONLUND, U., HIRVONEN, J., TULAMO, R.M., SUOMINEN, M.M., MARHAUG, G., FORSBERG, M., (2002) Dynamics in serum of the inflammatory markers serum amyloid A (SAA), haptoglobin, fibrinogen and alpha2 – globulins during induced noninfectious arthritis in the horse. *Equine Vet J*; 34 (7), S. 699 – 704.

HULTEN, C. und DEMMERS, S. (2002) Serum amyloid A (SAA) as an aid in the management of infectious disease in the foal: comparison with total leucocyte count, neutrophil count and fibrinogen. *Equine Vet J*; 34 (7), S. 693 – 698.

HURTIG, M.B. und POOL, R.R. (1996) Pathogenesis of equine osteochondrosis. In: McIlwraith CW, Trotter GW, editors. *Joint disease in the horse*. Philadelphia, PA: WB Saunders Company

HUSBY, G., MARHAUG, G., DOWTOR, B., SLETTEN, K., SIPE, J.D. (1994) Serum amyloid A (SAA): Biochemistry, genetics and the pathogenesis of AA amyloidosis. *Amyloid: Int J Exp Clin Invest*; 1(2), S. 119 – 137.

HUSEBEKK, A., HUSBY, G., SLETTEN, K., MARHAUG, G., NORDSTOGA, K. (1986) Characterization of amyloid protein AA and its serum precursor SAA in the horse. *Scand J Immunol*; 23 (6), S. 703 – 709.

HYYPÄÄ, S., HÖYHTYÄ, M., NEVALAINEN, M., PÖSÖ, R. (2002) Effect of exercise on plasma ferritin concentrations: Implications for the measurement of iron status. *Equine Vet J Suppl*; 34, S. 186 – 190.

INGENBLEEK, M. und YOUNG, V. (1994) Transthyretin (prealbumin) in health and disease: nutritional implications. *Ann Rev Nutr*; 14, S. 495 – 533.

INOUE, K., AKAIKE, T., MIYAMOTO, Y., OKAMOTO, T., SAWA, T., OTAGIRI, M., SUZUKI, S., YOSHIMURA, T., MAEDA, H. (1999) Nitrosothiol formation catalyzed by ceruloplasmin. Implication for cytoprotective mechanism in vivo. *J Biol Chem*; 274 (38), S. 27069 – 27075.

ITOH, H., MOTOI, Y., TAMURA, K., MURATA, H., CHIBA, T., TAKEDA, S. (1989) Serum alpha 1 – acid glycoprotein in bovine leukosis and its effects on blastogenesis of lymphocytes. *J Japan Vet Med Ass*; 42, S. 39 – 43.

ITOH, H., TAMURA, K., IZUMI, M., MOTOI, Y., KIDOGUCHI, K., FUNAYAMA, Y. (1993) The influence of age and health status on the serum alpha 1 – acid glycoprotein level of conventional and specific pathogen – free pigs. *Can J Vet Res*; 57 (2), S. 74 – 78.

JACOBSEN, S., ANDERSEN, P.H., TOELBOELL, T., HEEGAARD, P.M.H. (2004) Dose dependency and individual variability of the lipopolysaccharide – induced bovine acute phase protein response. *J Dairy Sci*; 87 (10), S. 3330 – 3339.

JACOBSEN, S., JENSEN, J.C., FREI, S., JENSEN, A.L., THOEFNER, M.B. (2005) Use of serum amyloid A and other acute phase reactants to monitor the inflammatory response after castration in horses: A field study. *Equine Vet J*; 37 (6), S. 552 – 556.

JACOBSEN, S., THOMSEN, M.H., NANNI, S. (2006a) Concentrations of serum amyloid A in serum and synovial fluid from healthy horses and horses with joint disease. *Am J Vet Res*; 67 (10), S. 1738 – 1742.

JACOBSEN, S., KJELGAARD – HANSEN, M., HAGBARD PETERSEN, H., JENSEN, A.L. (2006b) Evaluation of a commercially available human serum amyloid A (SAA) turbidometric immunoassay for determination of equine SAA concentrations. *Vet J*; 172 (2), S. 315 – 319.

JACOBSEN, S., NIEWOLD, T. A., HALLING – THOMSEN, M., NANNI, S., OLSEN, E., LINDEGAARD, C., ANDERSEN, P. H. (2006c) Serum amyloid A isoforms in serum and synovial fluid in horses with lipopolysaccharide – induced arthritis. *Vet Immunol Immunopath*; 110 (3 – 4), S. 325 – 330.

JACOBSEN, S. und ANDERSEN, P. (2007) The acute phase protein serum amyloid A (SAA) as a marker of inflammation in horses. *Equine Vet Educ*; 19 (1), S. 38 – 46.

JACOBSEN, M., LINDBERG, R., JONASSON, R., FELLSTROM, C., WAERN, M.J. (2007) Consecutive pathological and immunological alterations during experimentally induced swine dysentery – a study performed by repeated endoscopy and biopsy samplings through an intestinal cannula. *Res Vet Sci*; 82 (3), S. 287 – 298.

JACOBSEN, S. und KJELGAARD – HANSEN, M. (2008) Evaluation of a commercially available apparatus for measuring the acute phase protein serum amyloid A in horses. *Vet Rec*; 163 (11), S. 327 – 330.

JACOBSEN, S., NIELSEN, J.V., KJELGAARD – HANSEN, M., TOELBOELL, T., FJELDBORG, J., HALLING – THOMSEN, M., MARTINUSSEN, T., THOEFNER, M.B. (2009) Acute phase response to surgery of varying intensity in horses: A preliminary study. *Vet Surg*; 38 (6), S. 762 – 769.

JAIN, N. C. (1993) The Plasma Proteins, Dysproteinemias and Immune Deficiency Disorders In: Jain, N. C.: *Essentials of Veterinary Hematology* Lea & Febiger, Philadelphia, USA, 1st Edition.

JENSEN, L. und WHITEHEAD, A. (1998) Regulation of serum amyloid A protein expression during the acute – phase response. *Biochem J*; 334 (3), S. 489 – 503.

KATO, H., OHASHI, T., MATSUSHIRO, H., WATARI, T., GOITSUKA, R., TSUJIMOTO, H., HASEGAWA, A. (1997) Molecular cloning and functional expression of equine interleukin – 1 receptor antagonist. *Vet Immunol Immunopathol*; 56 (3 – 4), S. 221 – 231.

KENT, J.E. und GOODALL, J. (1991) Assessment of an immunoturbidimetric method for measuring equine serum Haptoglobin concentration. *Equine Vet J*; 23 (1), S. 59 – 66.

KENT, J. (1992) Acute phase proteins: their use in veterinary diagnosis. *Br Vet J*; 148 (4), S. 279 – 282.

KHAN, F.A. und KHAN, M. F. (2010) Inflammation and acute phase response. *Int J Appl Pharm Tech*; 1, S. 312 – 321.

KITAGAWA, S. und SAITO, M. (1988) Biological Activities of Interleukins and Colony – Stimulating Factors. *Tokai J Exp Clin Med*; 13 (6), S. 307 – 311.

KJELGAARD – HANSEN, M. und JACOBSEN, S. (2011) Assay validation and diagnostic applications of major acute – phase protein testing in companion animals. *Clin Lab Med*; 31 (1), S. 51 – 70.

KNIGHT, D.A., GABEL, A.A., REED, S.M. (1985) Correlation of dietary minerals to incidence and severity of metabolic bone disease in Ohio and Kentucky. *Am Assoc Equine Pract*; 31, S. 445 – 461.

KOMORI, T., KAI, H., SHIMOISHI, K., KABU, K., NONAKA, A., MARUYAMA, T., TAMURA, K., OTAGIRI, M. (2001) Up – regulation by clarithromycin of alpha (1) – acid glycoprotein expression in liver and primary cultured hepatocytes. *Biochem Pharmacol* 62 (10), S. 1391 – 1397.

KOVACS, B.M., SZILAGYI, L., JANAN, J., TOUSSAINT, M.J.M., GRUYS, E., RUDAS, P. (2005) Serum amyloid A in goose. In: *Proceedings of the fifth international colloquium on animal acute phase proteins*, Dublin. S. 84.

KRAGSBJERG, P., HOLMBERG, H., VIKERFORS, T. (1995) Serum concentrations of interleukin – 6, tumor necrosis factor – α , and C – reactive protein in patients undergoing major operations. *Eur J Surg*; 161 (1), S. 17 – 22.

KRAKOWSKI, L., KRAWCZYK, C.H., KOSTRO, K., STEFANIAK, T., NOVOTNY, F., OBARA, J. (2011) Serum levels of acute phase proteins: SAA, HP and progesterone (P4) in mares with early embryonic death. *Reprod Domest Anim*; 46 (4), S. 624 – 629.

KREMER, J.M.H., WILTING, J., JANSSEN, L.H.M. (1988) Drug binding to human alpha – 1 – acid glycoprotein in health and disease. *Pharmacol Rev*; 40 (1) S. 1 – 47.

KRISTENSEN, L., BUHL, R., NOSTELL, K., BAK, L., PETERSEN, E. (2014) Acute exercise does not induce an acute phase response (APR) in standardbred trotters. *Can J Vet Res*, 78 (2), S. 97 – 102.

KUMON, Y., SUEHIRO, T., HASHIMOTO, K., NAKATANI, K., SIPE, J.D. (1999) Local expression of acute phase serum amyloid A mRNA in rheumatoid

arthritis synovial tissue and cells. *J Rheumatol*. 26 (4), S. 785 – 790.

KUSHNER, I. (1982) The phenomenon of the acute phase response. *Ann N Y Acad Sci*; 389, S. 39 – 48.

KWAK, S.G. und KIM, J.H. (2017) Central limit theorem: the cornerstone of modern statistics. *Korean J Anesthesiol*; 70 (2), S. 144 – 156.

LABELLE, A.L., HAMOR, R.E., MACNEILL, A.L., LASCOLA, K.M., BREAUX, C.B., TOLAR, E.L. (2011) Effects of ophthalmic disease on concentrations of plasma fibrinogen and serum amyloid A in the horse. *Equine Vet J*; 43 (4), S. 460 – 465.

LARSON, M.A., WEI, S.H., WEBER, A., WEBER, A.T., MCDONALD, T.L. (2003) Induction of human mammary – associated serum amyloid A3 expression by prolactin or lipopolysaccharide. *Biochem Biophys Res Commun*; 301 (4), S. 1030 – 1037.

LARSON, M.A., WEBER, A., WEBER, A.T., MCDONALD, T.L. (2005) Differential expression and secretion of bovine serum amyloid A3 (SAA3) by mammary epithelial cells stimulated with prolactin or lipopolysaccharide. *Vet Immunol Immunopathol*; 107 (3 – 4), S. 255 – 264.

LAPOINTE, J.M., LAVERTY, S., LAVOIE, J.P. (1992) Septic arthritis in 15 Standardbred racehorses after intra – articular injection. *Equine Vet J*; 24 (6), S. 430 – 434

LIM, S. K., (2001) Consequences in haemolysis without haptoglobin. *Redox Rep*; 6 (6), S. 375 – 378.

LIN, T.H., SUGIYAMA, Y., SADWADA, Y., SUZUKI, Y., IGA, T., HANANO, M. (1987) Effect of surgery on serum alpha 1 – acid glycoprotein concentration and serum protein binding of DL – propranolol in phenobarbital – treated and untreated rats. *Drug Metab Dispos*; 15 (1), S. 138 – 140.

LINDER, M.C., NAGEL, G.M., ROBOZ, M., HUNGERFORD, D.M., Jr. (1981) The size and shape of heart and muscle ferritins analyzed by sedimentation, gel filtration, and electrophoresis. *J Biol Chem*; 256 (17), S. 9104 – 9110.

LINDHORST, E., YOUNG, D., BAGSHAW, W., HYLAND, M., KISILEVSKY, R. (1997) Acute inflammation, acute phase serum amyloid A and cholesterol metabolism in the mouse. *Biochem Biophys Acta*; 1339 (1), S. 143 – 154.

LIU, T., ZHANG, L., JOO, D., SUN, S.C. (2017) NF - κ B signaling in inflammation. *Signal Transduct Targeted Ther*; 2, S. 17023.

LOFSTROM, G. (1944) Comparison between the reactions of acute phase serum with pneumococcus C – polysaccharide and with pneumococcus type 27. *Br J Exp Pathol*; 25 (1), S. 21 – 26.

LOVE, E.J., TAYLOR, P.M., CLARK, C., WHAY, H.R., MURRELL, J. (2009) Analgesic effect of butorphanol in ponies following castration. *Equine Vet J*; 41 (6), S. 552 – 556.

- LUDWIG, E.K., BRANDON WIESE, R., GRAHAM, M.R., TYLER, A.J., SETTLAGE, J.M., WERE, S.R., PETERSSON – WOLFE, C.S., KANEVSKY – MULLARKY, J., DAHLGREN, L.A. (2016) Serum and synovial fluid Serum Amyloid a response in equine models of synovitis and septic arthritis. *Vet Surg*; 45 (7), S. 859 – 867.
- LUO, Z., LEI, H., SUN, S., LIU, X. (2015) Orosomucoid, an acute response protein with multiple modulating activities. *J Physiol Biochem*; 71 (2), S. 329 – 340.
- MAASSEN, E. und GERHARDS, H. (2009) Kastration beim Hengst: Behandlungsvergleich zwischen Phenybutazon, Traumeel® und Kontrollgruppe. *Pferdeheilkunde*; 25 (5), S. 451 – 460.
- MACKAY, R.J. (2000) Inflammation in horses. *Vet Clin North Am Equine Pract*; 16 (1), S. 15 – 27.
- MACKIEWICZ, A. (1997). Acute phase proteins and transformed cells. *Int Rev Cytol*; 170, S. 225 – 300.
- MALLE, E., BOLLMANN, A., STEINMETZ, A., GEMSA, D., LEIS, H. J., SATTLER, W. (1997) Serum amyloid A (SAA) protein enhances formation of cyclooxygenase metabolites of activated human monocytes. *FEBS Lett*; 419 (2 – 3), S. 215 – 219.
- MALLE, E., SODIN – SEMRL, S., KOVACEVIC, A. (2009) Serum amyloid A: an acute – phase protein involved in tumour pathogenesis. *Cell Mol Life Sci*; 66 (1), S. 9 – 26.
- MARHAUG, G., HACKETT, B., DOWTON, S.B. (1997) Serum amyloid gene expression in rabbit, mink and mouse. *Clin Exp Immunol*; 107 (2), S. 425 – 434.
- MATSUDA, T., HIRANO, T., NAGASAWA, S., KISHIMOTO, T. (1989) Identification of alpha 2 – macroglobulin as a carrier protein for IL – 6. *J Immunol*; 142 (1), S.148 – 152.
- MATTHEWS, A. G. (1982) Serum protein electrophoresis in horses and ponies. *Equine Vet J*; 14 (4), S. 322 – 324.
- MAY, A. (2007) Evaluierung von Stressparametern beim Pferd im Zusammenhang mit dem Klinikaufenthalt. Disserationsschrift. Ludwig – Maximilians – Universität München.
- MAZUMDER, B., MUKHOPADHYAY, C.K., PROK, A., CATHCART, M.K., FOX, P.L. (1997) Induction of ceruloplasmin synthesis by IFN – gamma in human monocytic cells. *J Immunol*; 159 (4), S. 1938 – 1944.
- MCDONALD, T.L., LARSON, M.A., MACK, D.R., WEBER, A. (2001) Elevated extrahepatic expression and secretion of mammary – associated serum amyloid A 3 (M – SAA3) into colostrum. *Vet Immunol Immunopathol*; 83 (3 – 4), S. 203 – 211.
- MCILWRAITH, C.W., BILLINGHURST, R.C., FRISBIE, D.D. (2001) Current and future diagnostic means to better characterize osteoarthritis in the horse – routine synovial fluid analysis and synovial fluid and serum markers. *AAEP Proceedings*, 47, S.171 – 179.

MEEK, R.L. und BENDITT, E.P. (1986) Amyloid A gene family expression in different mouse tissues. *J Exp Med*; 164 (6), S. 2006 – 2017.

MEEK, R.L., ERIKSEN, N., BENDITT, E.P. (1992) Murine serum amyloid A3 is a high density apolipoprotein and is secreted by macrophages. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 89 (17), S. 7949 – 7952.

MIGLIO, A., MORELLI, C., GIALLETTI, R., LAUTERI, E., SFORNA, M., MARENZONI, M.L., ANTOGNONI, M.T. (2019) Clinical and immunophenotypic findings in 4 forms of equine lymphoma. *Can Vet J*; 60 (1), S. 33 – 40.

MILLAR, H. R.; SIMPSON, J. G. und STALKER, A. L. (1971) An evaluation of the heat precipitation method for plasma fibrinogen estimation. *J Clin Pathol*; 24 (9), S. 827 – 830.

MILLER, M.S., MORITZ, A., RÖCKEN, M., ROTH, J., LITZKE, L.F. (2003) Die Akute Phase Reaktion nach minimalinvasiven Eingriffen beim Pferd. *Pferdeheilkunde*; 19 (6), S. 354 – 360.

MILLER, M.S. (2006) Akute Phase Proteine als diagnostischer Parameter der perioperativen Phase beim Pferd. Dissertationsschrift. Justus – Liebig – Universität Gießen.

MILLS, P.C., AUER, D.E., KRAMER, H, BARRY, D., NG, J.C. (1998) Effects of inflammation – associated acute – phase response on hepatic and renal indices in the horse. *Aust Vet J*; 76 (3), S 187 – 194.

MILNE, E.M., DOXEY, D.L., KENT, J.E., PEMBERTON, A. (1991) Acute phase proteins in grass sickness (equine dysautonomia). *Res. Vet Sci*; 50 (3), S. 273 – 278.

MISCHKE, R. (1997). Hämostase In: Kraft, W. und Dürr, U. M.: *Klinische Diagnostik in der Tiermedizin* F.K. Schattauer Verlagsgesellschaft Stuttgart, 4. Ausgabe, 92 – 111.

MOORE, D.F., ROSENFELD, M.R., GRIBBON, P.M., WINLOVE, C.P., TSAI, C.M. (1997) Alpha – 1 – acid (AAG, orosomucoid) glycoprotein: Interaction with bacterial lipopolysaccharide and protection from sepsis. *Inflammation*; 21 (1), S. 69 – 82.

MOSHKOVSKII, S.A. (2012) Why do cancer cells produce Serum Amyloid A acute – phase protein? *Biochem (Moscow)*; 77(4), S. 339 – 341.

MOUTHIERS, A., MEJDOUBI, N., BAILLET, A., AMÉLIE P.A., PORQUET, D. (2004) Retinoids increase alpha – 1 acid glycoprotein expression at the transcriptional level through two distinct DR1 retinoic acid responsive elements. *Biochim Biophys Acta*; 1678 (2 – 3), S. 135 – 144.

MURATA, H., SHIMADA, N., YOSHIOKA, M. (2004) Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. *Vet J*; 168 (1), S. 28 – 40.

NAKAYAMA, T., SONODA, S., URANO, T., YAMADA, T., OKADA, M.

(1993) Monitoring both serum amyloid A and C – reactive protein as inflammatory markers in infectious diseases. *Clin Chem*; 39 (2), S. 293 – 297.

NASH, D.M., SHELDON, I.M., HERATH, S., LANE, E.A. (2010) Markers of the uterine innate immune response of the mare. *Anim Reprod Sci*, 119 (1 – 2), S. 31 – 39.

NIELSEN, M.J., MØLLER, H.J., MOESTRUP, S.K. (2010) Hemoglobin and heme scavenger receptors. *Antioxid Redox Signal*; 12 (2), S. 261 – 273.

NOLEN – WALSTON, R. (2015) How to interpret serum amyloid A concentrations. *AAEP PROCEEDINGS*, 61, S. 130 – 137.

NUNOKAWA, Y., FUJINAGA, T., TAIRA, T., OKUMURA, M., YAMASHITA, K., TSUNODA, N., HAGIO, M. (1993) Evaluation of serum amyloid A protein as an acute – phase reactive protein in horses. *J Vet Med Sci*; 55 (6), S. 1011 – 1016.

O'HARA, R., MURPHY, E.P., WHITEHEAD, A.S., FITZGERALD, O., BRESNIHAN, B. (2004) Local expression of the serum amyloid A and formyl peptide receptor – like 1 genes in synovial tissue is associated with matrix metalloproteinase production in patients with inflammatory arthritis. *Arthritis Rheum*; 50 (6), S. 1788 – 1799.

OKUMURA, M., FUJINAGA, T., YAMASHITA, K., TSUNODA, N., MIZUNO, S. (1991) Isolation, characterization and quantitative analysis of ceruloplasmin from horses. *Am J Vet Res*; 52 (12), S. 1979 – 1985.

OVELGÖNNE, J.H., LANDMAN W.J., GRUYS, E., GIELKENS, A.L., PEETERS, B.P. (2001) Identical amyloid precursor proteins in two breeds of chickens which differ in susceptibility to develop amyloid arthropathy. *Amyloid*; 8 (1), S. 41 – 51.

PALTRINIERI, S. (2008) The feline Acute Phase Response. *Vet J*; 177 (1), S. 26 – 35.

PALTRINIERI, S., GIODGANO, A., VILLANI, M., MANFRIN, M., PANZANI, S., VERONESI, M.C. (2008) Influence of age and foaling on plasma protein electrophoresis and serum amyloid A and their possible role as markers of equine neonatal septicaemia. *Vet J*; 176 (3), S. 393 – 396.

PAN, Y., KATULA, K., FAILLA, M.L. (1996) Expression of ceruloplasmin gene in human and rat lymphocytes. *Biochim Biophys Acta*; 1307 (2), S. 233 – 238.

PASSAMONTI, F., VARDI, D.M., STEFANETTI, V., MARENZONI, M.L., PRATO, S., CEVESE, P., COLETTI, M., PEPE, M., CASAGRANDE PROIETTI, P., OLEA – POPELKA, F. (2015) *Rhodococcus equi* pneumonia in foals: an assessment of the early diagnostic value of serum amyloid A and plasma fibrinogen concentrations in equine clinical practice. *Vet J*; 203 (2), S. 221 – 218.

PATEL, H., FELLOWES, R., COADE, S., WOO, P. (1998) Human serum amyloid A has cytokine – like properties. *Scand J Immunol*; 48 (4), S. 410 – 418.

PATEL, B.N., DUNN, R.J., JEONG, S.Y., ZHU, Q., JULIEN, J.P., DAVID, S. (2002) Ceruloplasmin regulates iron levels in the CNS and prevents free radical injury. *J Neurosci*; 22 (15), S. 6578 – 6586.

PATTERSON, S.D., AUER, D., BELL, K. (1988) Acute phase response in the horse: plasma protein changes associated with adjuvant induced inflammation. *Biochem Int*; 17 (2), S. 257 – 264.

PENHALLOW, R.C., MASON, A.B., WOODWORTH, R.C. (1991) Electrophoretic characterization of human, equine and bovine transferrins. *Comp Biochem Physiol B*; 98 (1), S. 41 – 45.

PEPYS, M.B., BALTZ, M.L., TENNENT, G.A. (1989) Serum amyloid A (SAA) in horses: objective measurement of the acute phase response. *Equine Vet J*; 21 (2), S. 106 – 109.

PETERSEN, H.H., NIELSEN, J.P., HEEGAARD, P.M.H. (2004) Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. *Vet Res*; 35 (2), S. 163 – 187.

PIHL, T.H., ANDERSEN, P.H., KJELGAARD – HANSEN, M., MØRCK, N.B., JACOBSEN, S. (2013) Serum amyloid A and Haptoglobin concentrations in serum and peritoneal fluid of healthy horses and horses with acute abdominal pain. *Vet Clin Pathol*; 42 (2), S. 177 – 183.

PIHL, T.H., SCHEEPERS, E., SANZ, M., GODDARD, A., PAGE, P., TOFT, N., ANDERSEN, P.H., JACOBSEN, S. (2015) Influence of disease process and duration on acute phase proteins in serum and peritoneal fluid of horses with colic. *J Vet Intern Med*; 29 (2), S. 651 – 658.

PIHL, T.H., SCHEEPERS, E., SANZ, M., GODDARD, A., PAGE, P., TOFT, N., KJELGAARD – HANSEN, M., ANDERSEN, P.H., JACOBSEN, S. (2016) Acute – phase proteins as diagnostic markers in horses with colic. *J Vet Emerg Crit Care*, 26 (5), S. 664 – 674.

PIVA, M., HOROWITZ, G.M., SHARPE – TIMMS, K.L. (2001). Interleukin – 6 differentially stimulates haptoglobin production by peritoneal and endometriotic cells in vitro: a model for endometrial – peritoneal interaction in endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab*; 86 (6), S. 2553 – 2561.

POLLOCK, P.J., PRENDERGAST, M., SCHUMACHER, J., BELLENGER, C.R. (2005) Effects of surgery on the acute phase response in clinically normal and diseased horses. *Vet Rec*; 156 (17), S. 538 – 542.

PRECIADO – PATT, L., CAHALON, L., HERSHKOVITZ, R., LIDER, O., PRAS, M., FRIDKIN, M. (1998) Serum Amyloid A complexed with extracellular matrix induces the secretion of tumor necrosis factor – α by human T – lymphocytes. *Lett. Peptide Sci.*, 5 (5), S. 349 – 355.

PRITCHETT, T.J. und PAULSON, J.C. (1989) Basis for the Potent Inhibition of influenza virus infection by equine and guinea pig $\alpha 2$ – macroglobulin. *J Biol Chem*, 264 (17), S. 9850 – 9858.

PRITCHETT, L.C., ULIBARRI, C., ROBERTS, M.C., SCHNEIDER, R.K., SELLON, D.C. (2003) Identification of potential physiological and behavioral indicators of postoperative pain in horses after exploratory celiotomy for colic. *Appl Anim Behav Sci*; 80 (1), S. 31 – 43.

- QUINTON, L.J., JONES, M.R., ROBSON, B.E., MIZGERD, J.P. (2009) Mechanisms of the hepatic acute phase response during bacterial pneumonia. *Infect Immun*; 77 (6), S. 2417 – 2426.
- RAMADORI, G., SIPE, J.D., COLTEN, H.R. (1985) Expression and regulation of the murine serum amyloid A (SAA) gene in extrahepatic sites. *J. Immunol.* 135 (6), S. 3645 – 3647.
- REY, E. G., O'DELL, D., MEHTA, S., ERICKSON, D. (2017) Mitigating the hook effect in lateral flow sandwich immunoassays using real – time reaction kinetics. *Anal Chem*; 89 (9), S. 5095 – 5100.
- ROBINSON, C.S., SINGER, E. R., PIVIANI, M., RUBIO – MARTINEZ, L. M. (2017) Are serum amyloid A or D – lactate useful to diagnose synovial contamination or sepsis in horses? *Vet Rec*; 181 (16), S. 425
- ROTHKRANTZ – KOS, S., VAN DIEIJEN – VISSER, M.R., MULDER, P.G.H., DRENT, M. (2003) Potential usefulness of inflammatory markers to monitor respiratory functional impairment in sarcoidosis. *Clin Chem*; 49 (9), S. 1510 – 1517.
- RYGG, M., HUSBY, G., MARHAUG, G. (1993) Differential expression of rabbit serum amyloid A genes in response to various inflammatory agents. *Scand. J. Immunol.* 38 (5), S. 417 – 422.
- SAKATA, S., YOSHIOKA, N., ATASSI, M.Z. (1986) Human haptoglobin binds to human myoglobin. *Biochim Biophys Acta*; 873 (2), S. 312 – 315.
- SANCHEZ – TERAN, A.F., RUBIO – MARTINEZ, L.M., VILLARINO, N.F., SANZ, M.G. (2012) Effects of repeated intra – articular administration of amikacin on serum amyloid A, total protein and nucleated cell count in synovial fluid from healthy horses. *Equine Vet J Suppl*; 43, S. 12 – 16.
- SANCHEZ – TERAN, A.F., BRACAMONTE, J.L., HENDRICK, S., RIDDELL, L., MUSIL, K., HOFF, B., RUBIO – MARTINEZ, L.M. (2016) Effect of repeated through – and – through joint lavage on serum amyloid A in synovial fluid from healthy horses. *Vet J*; 210, S. 30 – 33.
- DE SANTO, C., ARSCOTT, R., BOOTH, S., KARYDIS, I., JONES, M., ASHER, R., SALIO, M., MIDDLETON, M., CERUNDOLO, V. (2010) Invariant NKT cells modulate the suppressive activity of IL – 10 – secreting neutrophils differentiated with serum amyloid A. *Nat Immunol*; 11 (11), S. 1039 – 1046.
- SANZ, M.G., SELLON, D.C., CARY, J.A., HINES, M.T., FARNSWORTH, K.D. (2009) Analgesic effects of butorphanol tartrate and phenylbutazone administered alone and in combination in young horses undergoing routine castration. *J Am Vet Med Assoc*; 235 (10), S. 1194 – 1203.
- SATOH, M., FUJINAGA, T., OKUMURA, M., HAGIO, M. (1995) Sandwich enzyme – linked immunosorbent assay for quantitative measurement of serum amyloid A protein in horses. *Am J Vet Res*; 56 (10), S. 1286 – 1291.
- SATUÉ, K., CALVO, A., GARDON, J.C. (2013) Factors influencing serum amyloid type A (SAA) concentrations in horses. *OJVM*; 3 (1), S. 58 – 66.

SCHAER, D.J., BUEHLER, P.W., ALAYASH, A.I., BELCHER, J.D., VERCELLOTTI, G.M. (2013) Hemolysis and free hemoglobin revisited: Exploring hemoglobin and hemin scavengers as a novel class of therapeutic proteins. *Blood*; 121 (8), S. 1276 – 1284.

SCHNEIDER, R., BRAMLAGE, L., MOORE, R., MECKLENBURG, L.M., KOHN, C.W, GABEL, A.A. (1992) A retrospective study of 192 horses affected with septic arthritis/tenosynovitis. *Equine Vet J*; 24 (6), S. 436 – 442.

SCHROEDL, W., FUERLL, B., REINHOLD, P., KRUEGER, M., SCHUETT, C. (2001) A novel acute phase marker in cattle: lipopolysaccharide binding protein (LBP). *J Endotoxin Res*; 7 (1), S. 49 – 52.

SCHUMACHER, J., SCHUMACHER, J., SPANO, J.S., MCGUIRE, J., SCRUTCHFIELD, W.L., FELDMAN, R.G. (1988) Effects of castration on peritoneal fluid in the horse. *J Vet Intern Med*; 2(1), S. 22 – 25.

SCHUMANN, R.R., LEONG, S.R., FLAGGS, G.W., GRAY, P.W., WRIGHT, S.D., MATHISON, J.C., TOBIAS, P.S., ULEVITCH, R.J. (1990) Structure and function of lipopolysaccharide binding protein. *Science*; 249 (4975), S. 1429 – 1432.

SCHUMANN, R.R., KIRSCHNING, C.J., UNBEHAUN, A., ABERLE, H., KNOFF, H.P., LAMPING, N., ULEVITCH, R.J., HERRMANN, F. (1996) The lipopolysaccharide – binding protein is a secretory class 1 acute – phase protein whose gene is transcriptionally activated by APRF/STAT/3 and other cytokine – inducible nuclear proteins. *Mol Cell Biol*; 16 (7), S. 3490 – 3503.

SCHUMANN, R. R. und ZWEIGNER, J. (1999) A novel acute – phase marker: Lipopolysaccharide Binding Protein (LBP). *Clin. Chem Lab Med*; 37 (3), S. 271 – 274.

SCHWARTZ, D., PUSTERLA, N., JACOBSEN, S., CHRSTIPHER, M.M. (2018) Analytical validation of a new point – of – care assay for serum amyloid A in horses. *Equine Vet J*; 50 (5), S. 678 – 683.

SCOPPETTA, F., TARTAGLIA, M., RENZONE, G., AVELLINI, L., GAITI, A., SCALONI, A. CHIARADIA, E. (2012) Plasma protein changes in horse after prolonged physical exercise: a proteomic study. *J Proteomics* 75 (14), S. 4494 – 4504.

SEARLE, D., DART, A.J., HODGSON, D.R. (1999) Equine castration: review of anatomy, approaches, techniques and complications in normal, cryptorchid and monorchid horses. *Aust Vet J*; 77 (7), S. 428 – 434.

SEGELMARK, M., PERSSON, B., HELLMARK, T., WIESLANDER, J. (1997) Binding and inhibition of myeloperoxidase (MPO): a major function of ceruloplasmin? *Clin Exp Immunol*; 108 (1), S. 167 – 174.

SHAINKIN – KESTENBAUM, R., BERLYNE, G., ZIMLICHMAN, S., SORIN, H.R., NYSKA, M., DANON, A. (1991) Acute phase protein, serum amyloid A, inhibits IL – 1 – and TNF – induced fever and hypothalamic PGE₂ in mice. *Scand J Immunol*; 34 (2), S. 179 – 183.

SIPE, J.D., VOGEL, S.N., SZTEIN, M.B., SKINNER, M., COHEN, A.S. (1982) The role of interleukin 1 in acute phase serum amyloid A (SAA) und serum amyloid P (SAP) biosynthesis. *Ann N Y Acad Sci*; 382, S. 137 – 150.

SLETTEN, K., HUSEBEKK, A., HUSBY, G. (1989) The primary structure of equine serum amyloid A (SAA) protein. *Scand J Immunol*; 30 (1), S. 117 – 122.

SMITH, D.J. und ROBERTS, D. (1994) Effects of high volume and/or intense exercise on selected blood chemistry parameters. *Clin Biochem*; 27 (6), S. 435 – 440.

SODIN - SEMRL, S., SPAGNOLO, A., MIKUS, R., BARBARO, B., VARGA, J., FIORE, S. (2004) Opposing regulation of interleukin-8 and NF-kappaB responses by lipoxin A4 and serum amyloid A via the common lipoxin A receptor. *Int J Immunopathol Pharmacol*; 17 (2), S. 145 – 156.

STEEL, C.M. (2008) Equine synovial fluid analysis. *Vet Clin North Am Equine Pract*; 24 (2), S. 437 – 454.

STONEHAM, S.J., PALMER, L., CASH, R., ROSSDALE, P.D. (2001) Measurement of serum amyloid A in the neonatal foal using a latex agglutination immunoturbidimetric assay: determination of the normal range, variation with age and response to disease. *Equine Vet J*; 33 (6), S. 599 – 603.

SU, S. B., GONG, W., GAO, J. L., SHEN, W., MURPHY, P. M., OPPENHEIM, J. J., WANG, J. M. (1999) A seven-transmembrane, G protein-coupled receptor, FPRL1, mediates the chemotactic activity of serum amyloid A for human phagocytic cells. *J Exp Med*; 189 (2), S. 395 – 402.

SUFFREDINI, A.F., FANTUZZI, G., BADOLATO, R., OPPENHEIM, J.J., O'GRADY, N.P. (1999) New insights into the biology of the acute phase response. *J Clin Immunol*; 19 (4), S. 203 – 214.

SZARSKA, E. (2003). Investigations of blood parameters for evaluating of health status and training effects in race and sport horses. *Zesz Nauk AR Wroclaw*; 471, S. 1 – 115.

TAIRA T., FUJINAGA T., TAMURA, K., IZUMI, M., ITOH, H., TUNODA, N., YAMASHITA K., OKUMURA M. and MIZUNO, S. (1992a) Isolation and characterization of $\alpha 1$ – acid glycoprotein from horses, and its evaluation as an acute – phase reactive protein in horses. *Am J Vet Res*; 53 (6), S. 961 – 965.

TAIRA, T., FUJINAGA, T., OKUMURA, M., YAMASHITA, K., TSUNODA, N., MIZUNO, S. (1992b) Equine haptoglobin: isolation, characterization, and the effects of ageing, delivery and inflammation on its serum concentration. *J Vet Med Sci*; 54 (3), S. 435 – 442.

TAKIGUCHI, M., FUJINAGA, T., NAIKI, M., MIZUNO, S., OTOMO, K. USH (1990) Isolation, characterization, and quantitative analysis of C – reactive protein from horses. *Am J Vet Res*; 51 (8), S. 1215 – 1220.

TAPE, C. und KISILEVSKY, R. (1990) Apolipoprotein A – I and apolipoprotein SAA half – lives during acute inflammation and amyloidogenesis. *Biochim Biophys Acta*, 1043 (3), S. 295 – 300.

- THORN, C.F., LU, Z. Y., WHITEHEAD, A.S. (2004) Regulation of the human acute phase serum amyloid A genes by tumor necrosis factor – α , interleukin – 6 and glucocorticoids in hepatic and epithelial cell lines. *Scand J Immunol*; 59 (2), 152 – 158
- TILG, H., DINARELLO, C.A., DINARELLO, J. W. (1997) IL – 6 and APPs: antiinflammatory and immunosuppressive mediators. *Immunol Today*; 18 (9), S. 428 – 432.
- TILLET, W. S., FRANCIS, T. (1930) Serological reactions in pneumonia with a non – protein somatic fraction of pneumococcus. *J Exp Med*; 52 (4), S. 561 – 571.
- TOPPER, M.J. und PRASSE, K.W. (1998) Analysis of coagulation proteins as acute – phase reactants in horses with colic. *Am J Vet Res*; 59 (5), S. 542 – 545.
- TOTHOVA, C., NAGY, O., SEIDEL, H., KOVAC, G. (2012) The effect of storage temperature and time on the concentrations of bovine serum amyloid a and its mammary associated isoform. *Vet Med Int*; 2012 (861458), S. 1 – 6.
- TROEDSSON, M.H.T. und ZENT, W.W. (2004) Clinical ultrasonographic evaluation of the equine placenta as a method to successfully identify and treat mares with placentitis. In: *Proceedings. 1st Workshop on the equine placenta*, Lexington, KY; S. 66 – 67.
- TROEDSSON, M.H.T. und MACPHERSON, M.L. (2011). Placentitis. In: McKinnon AO, Squires EL, Vaala WE, Varner DD, editors. *Equine reproduction*. 2nd, Vol. 2. Hoboken NJ: Wiley – Blackwell; S. 2359 – 2367.
- TULAMO, R., BRAMLAGE, L., GABEL, A. (1989) Sequential clinical and synovial fluid changes associated with acute infectious arthritis in the horse. *Equine Vet J*; 21 (5), S. 325 – 331.
- TURLO, A., CYWINSKA, A., CZOPOWICZ, M., WITKOWSKI, L., JASKIEWICZ, A., WINNICKA, A. (2016) Racing induces changes in the blood concentration of serum amyloid A in thoroughbred racehorses. *J Equine Vet Sci*; 36, S. 15 – 18.
- UHLAR, C.M. und WHITEHEAD, A.S. (1999) Serum amyloid A, the major vertebrate acute – phase reactant. *Eur J Biochem*; 265 (2), S. 501 – 523.
- UPRAGARIN, N., LANDMAN, W.J.M., GAASTRA, W., GRUYS, E. (2005) Extrahepatic production of acute phase serum amyloid A. *Histol Histopathol*; 20 (4), S. 1295 – 1307.
- URIELI SHOVAL, S., FINCI YEHESEKEL, Z., DISHON, S., GALINSKY, D., LINKE, R.P., ARIEL, I., LEVIN, M., BEN – SHACHAR, I., PRUS, D. (2010) Expression of serum amyloid A in human ovarian epithelial tumors: Implication for a role in ovarian tumorigenesis. *J Histochem Cytochem*; 58 (11), S. 1015 – 1023.
- VALLE, E., ZANATTA, R., ODETTI, P., TRAVERSO, N., FURFARO, A., BERGERO, D., BADINO, P., GIRARDI, C., MINISCALCO, B., BERGAGNA, S., TARANTOLA, M., INTORRE, L., ODORE, R. (2015) Effects of competition on acute phase proteins and lymphocyte subpopulations – oxidative stress makers in eventing horses. *J Animal Physiol Animal Nutr*; 99 (5), S. 856 – 863.
- VALLON, R., FREULER, F., DESTA – TSEDU, N., ROBEVA, A., DAWSON,

J., WENNER, P., ENGELHARDT, P., BOES, L., SCHNYDER, J., TSCHOPP, C., URFER, R., BAUMANN, G. (2001) Serum amyloid A (apoSAA) expression is up – regulated in rheumatoid arthritis and induces transcription of matrix metalloproteinases. *J Immunol*; 166 (4), S. 2801 – 2807.

VANDENPLAS, M.L., MOORE, J.N., BARTON, M.H., ROUSSEL, A. J., COHEN, N.D. (2005) Concentrations of serum amyloid A and lipopolysaccharide – binding protein in horses with colic. *Am J Vet Res*; 66 (9), S. 1509 – 1516.

VERNOOY, J. H., REYNAERT, N., WOLFS, T. G., CLOOTS, R. H., HAEGENS, A., DE VRIES, B., DENTENER, M. A., BUURMAN, W. A., WOUTERS, E. M. (2005) Rapid pulmonary expression of acute – phase reactants after local lipopolysaccharide exposure in mice is followed by an interleukin – 6 mediated systemic acute – phase response. *Exp Lung Res*; 31 (9 – 10), S. 855 – 871.

VINER, M., MAZAN, M., BEDENICE, D., MAPES, S., PUSTERLA, N. (2017) Comparison of Serum Amyloid A in horses with infectious and noninfectious respiratory diseases. *J Equine Vet Sci*; 49, S. 11 – 13.

VREUGDENHIL, A.C., DENTENER, M.A., SNOEK, A.M., GREVE, J.W., BUURMAN, W.A. (1999) Lipopolysaccharide binding protein and serum amyloid A secretion by human intestinal epithelial cells during the acute phase response. *J Immunol*; 163 (5), S. 2792 – 2798.

WALDNER, J.S. (2017) Untersuchungen zum Vorkommen von Serum Amyloid A im Pferdeauge. Dissertationsschrift. Ludwig – Maximilians – Universität München.

WEINSTEIN, P.S., SKINNER, M., SIPE, J.D., LOKICH, J.J., ZAMCHECK, N., COHEN, A.S. (1984) Acute – phase proteins or tumour markers: the role of SAA, SAP, CRP and CEA as indicators of metastasis in a broad spectrum of neoplastic diseases. *Scand J Immunol*; 19, S. 193 – 198.

WESTERMAN, T.L., FOSTER, C.M., TORNQUIST, S.J., POULSEN, K.P. (2016) Evaluation of serum amyloid A and Haptoglobin concentrations as prognostic indicators for horses with colic. *J Am Vet Med Ass*; 248 (8), S. 935 – 940.

WIESNER, E. und RIBBECK, R. (2000) Lexikon der Veterinärmedizin. Enke im Hippokrates Verlag GmbH, Stuttgart; S. 425

WIGMORE, S.J., FEARON, K.C., MAINGAY, J.P., LAI, P.B., ROSS, J.A. (1997) Interleukin – 8 can mediate acute – phase protein production by isolated human hepatocytes. *Am J Physiol* 273 (4 Pt 1), S. E720 – 726.

WINDER, N.C., PELLEGRINI, A., VON FELLEBERG, R. (1989) Immunohistochemical localisation of alpha 2 – macroglobulin in the horse. *Res Vet Sci*; 47 (3), S. 393 – 396.

WISSDORF, H., GERHARDS, H., HUSKAMP, B. und DEEGEN, E. (2002) Praxisorientierte Anatomie und Propädeutik des Pferdes. 2. Auflage. Verlag M. u. H. Schaper, Alfeld-Hannove

WOLF, M., BÖHM, S., BRAND, M., KREYMAN, G. (1996) Proinflammatory

cytokines interleukin 1 beta and tumor necrosis factor alpha inhibit growth hormone stimulation of insulin – like growth factor I synthesis and growth hormone receptor mRNA levels in cultured rat liver cells. *Eur J Endocrinol*; 135 (6), S. 729 – 737.

WRIGHT, I.M., SMITH, M.R., HUMPHREY, D.J., EATON – EVANS, T.C., HILLYER, M.H. (2003) Endoscopic surgery in the treatment of contaminated and infected synovial cavities. *Equine Vet J*; 35 (6), S. 613 – 619.

XIE, H., HUFF, G.R., HUFF, W.E., BALOG, J.M., HOLT, P., RATH, N.C. (2002) Identification of ovotransferrin as an acute phase protein in chickens. *Poult Sci*; 81 (1), S. 112 – 120.

YAMASHITA, K., FUJINAGA, T., OKUMAURA, M., TAKIGUCHI, M., TSUNODA, N., MIZUNO, S. (1991) Serum C – reactive protein (CRP) in horses: the effect of aging, sex, delivery and inflammations on its concentration. *J Vet Med Sci*; 53 (6), S. 1019 – 1024.

YANG, F., FRIEDRICH, W.E., DEGRAFFENRIED, L., HERBERT, D.C., WEAKER, F.J., BOWMAN, B.H., COALSON, J.J. (1996) Cellular expression of ceruloplasmin in baboon and mouse lung during development and inflammation. *Am J Respi Cell Mol Biol*; 14 (2), S. 161–169.

YE, R. D. und SUN, L. (2015) Emerging functions of serum amyloid A in inflammation. *J Leukoc Biol*; 98(6), S. 923 – 929.

YODA, Y. und ABE, T. (1980) Acute monocytic leukemia cell isoferitin. *Cancer*; 46 (2), S. 289 – 292.

ZABRECKY, K.A., SLOVIS, N.M., CONSTABLE, P.D., TAYLOR, S.D. (2015) Plasma C – reactive protein and haptoglobin concentrations in critically ill neonatal foals. *J Vet Intern Med*; 29 (2), S. 673 – 677.

ZIMLICHMAN, S., DANON, A., NATHAN, I., MOZES, G., SHAINKIN – KESTENBAUM, R. (1990) Serum amyloid A, an acute phase protein, inhibits platelet activation. *J Lab Clin Med*; 116 (2), S. 180 – 186.

IX. ANHANG

1. Tabellen – und Abbildungsverzeichnis

1.1. Tabellenverzeichnis

Tabellen/Titel	Seite
Tab. 1: <i>Die major und moderate APP bei verschiedenen Tierarten. Modifiziert nach CRAY et al. (2009).</i>	13
Tab. 2: <i>Positive und negative APP beim Pferd. Modifiziert nach JACOBSEN und ANDERSEN (2007).</i>	14
Tab. 3: <i>Referenzwerte von SAA in Abhängigkeit von Messverfahren, Autor und Alter der Pferde, Angaben in Mittelwert bzw. Medianwert (*) und Standardabweichung.</i>	31
Tab. 4: <i>Extrahepatische Produktionsorte von SAA. Modifiziert nach BERG et al. (2011)</i>	35
Tab. 5: <i>Erkrankungen und mögliche Ursachen für eine Konzentrationserhöhung von SAA beim Pferd. Modifiziert nach JACOBSEN und ANDERSEN (2007).</i>	36
Tab. 6: <i>Medianwerte von SAA – Konzentrationen beim Fohlen. Modifiziert nach STONEHAM et al. (2001)</i>	41
Tab. 7: <i>SAA, Fb, Gesamtleukozyten und Neutrophile Granulozyten bei Fohlen mit bakterieller Infektion (n = 8) und nicht – bakteriellen Infektionen bzw. bei unklarer Diagnose (inklusive unklarer Blutkultur, Virusinfektionen). Es sind die Medianwerte angegeben. * = nicht statistisch signifikant. Modifiziert nach HULTEN und DEMMERS (2002).</i>	42
Tab. 8: <i>Übersicht über die Linien des EquiChekTM – SAA und ihren SAA – Konzentrationen laut dem Hersteller.</i>	60
Tab. 9: <i>Recodierung der Messergebnisse des ELISA in die Linien des EquiChekTM – SAA.</i>	63
Tab. 10: <i>Auflistung der 4 Pferde, welche eine innere Körpertemperatur</i>	70

<i>über dem Referenzbereich nach WISSDORF et al. (2002) aufwiesen.</i>	
Tab. 11: <i>Palpationsbefunde der Lnn. mandibulares prä (t₁) – und postoperativ (t₂). (obB. = ohne besonderen Befund).</i>	72
Tab. 12: <i>Ergebnis der EquiChekTM – SAA – Messung (Angaben in Linien) prä (t₁) – und postoperativ (t₂).</i>	73
Tab. 13: <i>Ergebnisse der Labormessung von SAA (gemessen in mg/l) prä (t₁) – und postoperativ (t₂).</i>	75
Tab. 14: <i>Korrelationstabelle der SAA – Konzentration gemessen mit dem EquiChekTM – SAA und der Labormethode ELISA (recodiert in Linien) zu den Zeitpunkten vor der Kastration (t₁) und nach der Kastration (t₂). Die beiden ** zeigen eine starke, positive Korrelation an.</i>	80
Tab. 15: <i>Auflistung der Hengste, welche am Tag vor der Kastration mit einer klinisch signifikanten Entzündung (gemessen mit dem EquiChekTM – SAA) auffällig waren. Darstellung der Parameter EquiChekTM – SAA, ELISA, Gesamtleukozyten, Fb und innere Körpertemperatur (KIT).</i>	82

1.2. Abbildungsverzeichnis

Abbildung/Titel	Seite
Abb. 1: <i>Charakteristischer Verlauf der Konzentrationsveränderungen von verschiedenen APP nach einem moderaten entzündlichen Stimulus. Übernommen von GABAY und KUSHNER (1999).</i>	15
Abb. 2: <i>Darstellung des Applikators zum Auftragen des Blutes auf das Probenfenster des EquiChekTM – SAA.</i>	57
Abb. 3: <i>Darstellung des EquiChekTM – SAA bei einem gesunden Pferd mit 4 Linien auf dem Testpad.</i>	58
Abb. 4: <i>Darstellung des EquiChekTM – SAA bei einem Pferd mit klinisch signifikanter Entzündung und somit 1 Linie auf dem Testpad.</i>	59
Abb. 5: <i>Die Herzfrequenz (Schläge pro Minute) der 48 Patienten prä (1) – und postoperativ (2). Angegeben sind die jeweiligen Medianwerte</i>	66

(50%), die Minimal – und Maximalwerte und die Box (Interquartalabstand; 25 – 75%) der Herzfrequenz. Grün unterlegt: Referenzbereich der Herzfrequenz nach HUSKAMP et al. (1999) und WISSDORF et al. (2002).	
Abb. 6: Streudiagramm der Herzfrequenz (gemessen in Schläge pro Minute) der 48 Patienten prä (1) – und postoperativ (2). Grün unterlegt: Referenzbereich nach HUSKAMP et al. (1999) und WISSDORF et al. (2002).	67
Abb. 7: Darstellung der Atemfrequenz (Atemzüge pro Minute) der 48 Patienten prä (1) – und postoperativ (2). Angegeben sind die jeweiligen Medianwerte (50%), die Minimal – und Maximalwerte, die Box (Interquartalsabstand, 25 – 75%) und die Ausreißer (Einzelwerte, 1,5 x Interquartalabstand) der Atemfrequenz. Grün unterlegt: Referenzbereich nach HUSKAMP et al. (1999) und WISSDORF et al. (2002).	68
Abb. 8: Streudiagramm der Atemfrequenz (gemessen in Atemzüge pro Minute) der 48 Patienten prä (1) – und postoperativ (2). Grün unterlegt: Referenzbereich der Atemfrequenz nach WISSDORF et al. (2002).	69
Abb. 9: Streudiagramm der inneren Körpertemperatur (gemessen in °C) der 45 Patienten prä (1) – und postoperativ (2). Grün unterlegt: Referenzbereich der inneren Körpertemperatur nach WISSDORF et al. (2002).	70
Abb. 10: Die innere Körpertemperatur (gemessen in °C) der 45 Patienten prä (1) – und postoperativ (2). Angegeben sind die Medianwerte (50%), die Minimal – und Maximalwerte und die Box (Interquartalabstand; 25 – 75%) der inneren Körpertemperatur. Grün unterlegt: Referenzbereich der inneren Körpertemperatur nach WISSDORF et al. (2002).	71
Abb. 11: Einfaches Fehlerbalkendiagramm für die EquiChek TM – SAA – Mittelwerte prä (1) – und postoperativ (2). Angegeben sind die Mittelwerte mit einem Konfidenzintervall von 95%.	74
Abb. 12: Messergebnisse des ELISA (gemessen in µg/ml) prä (1) – und postoperativ (2). Angegeben sind die jeweiligen Medianwerte (50%), die	76

<p><i>Minimal – und Maximalwerte, die Box (Interquartalabstand; 25 – 75%) und die Ausreißer (Einzelwerte, ° = 1,5 x Interquartalabstand; * > 3,0 x Interquartalabstand) der Ergebnisse des ELISA. Die Skala ist logarithmisch dargestellt.</i></p>	
<p>Abb. 13: Streudiagramm für die Zählung der Gesamtleukozyten (gemessen in WBC/μl) der 13 Patienten prä (1) – und postoperativ (2). Grün unterlegt: Referenzbereich der Gesamtleukozyten nach der DVG (1982).</p>	77
<p>Abb. 14: Darstellung der Zählung der Gesamtleukozyten (gemessen in WBC/μl) der 13 Patienten prä (1) – und postoperativ (2). Angegeben sind die jeweiligen Medianwerte (50%), die Minimal – und Maximalwerte, die Box (Interquartalabstand; 25 – 75%) und die Ausreißer (Einzelwerte, ° = 1,5 x Interquartalabstand) der Zählung der Gesamtleukozyten. Grün unterlegt: Referenzbereich der Gesamtleukozyten nach der DVG (1982).</p>	78
<p>Abb. 15: Darstellung der Fb – Messung (gemessen in mg/dl) der 13 Patienten prä (1) – und postoperativ (2). Angegeben sind die jeweiligen Medianwerte (50%), die Minimal – und Maximalwerte und die Box (Interquartalabstand; 25 – 75%) der Fb – Messung. Grün unterlegt: Referenzbereich von Fb nach JACOBSEN und ANDERSEN (2007) und CRISMAN et al. (2008).</p>	79
<p>Abb. 16: Darstellung der Mittelwerte resultierend aus der Messung mit dem EquiChekTM – SAA (blau) und dem ELISA (rot) prä (1) – und postoperativ (2). Die ELISA – Werte wurden für die Darstellung recodiert und in die Linien des EquiChekTM – SAA umgewandelt.</p>	81

2. Probandenliste

Proband	Alter	Rasse	EquiChek™ – SAA		ELISA		Herz- frequenz		Atem- frequenz		KIT	
			t ₁	t ₂	t ₁	t ₂	t ₁	t ₂	t ₁	t ₂	t ₁	t ₂
1	4	Haflinger	4	1	0	54	44	48	24	16	37,6	38,5
2	3	Araber	4	1	0	249	48	40	24	16	37,5	37,3
3	3	Araber	4	2	1	0	44	48	20	28	37,3	37,7
4	3	Araber	4	3	0	20	36	48	12	28	37,3	37,4
5	1	Araber	4	1	0	55	44	36	16	24	37,8	38,4
6	3	Isländer	4	1	0	43	36	52	12	24	37,8	37,8
7	4	Knabstrupper	1	1	0	>80 0	44	32	28	16	38,1	37,4
8	5	WB	4	1	0	202	36	48	12	24	37,3	38,2
9	5	WB	4	3	0	22	36	32	16	16	37,6	38,1
10	4	Isländer	1	1	142	199	32	40	12	12	37,6	38,1
11	4	WB	4	1	1	17	48	40	16	12	37,8	37,6
12	6	Dt. Reitpony	1	1	13	>80 0	40	40	16	12	38,4	38,4
13	5	Dt. Reitpony	4	1	0	44	44	44	12	16	38,0	38,0
14	5	Andalusier	4	1	0	170	36	32	20	12	37,4	37,6
15	2	Isländer	4	2	2	169	48	48	16	24	37,7	39,2
16	3	WB	4	1	0	97	32	36	12	12	37,6	37,5
17	3	Quarter Horse	4	2	5	186	44	40	12	12	37,2	38,7
18	2	WB	4	4	0	5	40	36	12	12	37,5	37,8
19	4	Quarter Horse	4	1	0	406	44	44	16	16	37,5	37,3
20	3	Araber	4	1	0	181	36	40	12	12	37,2	37,8
21	2	WB	4	4	0	1	32	36	12	16	36,9	37,1
22	3	Quarter Horse	4	1	0	77	32	36	12	12	37,3	37,8

23	4	WB	4	1	0	333	28	32	8	12	37,1	37,2
24	4	Quarter Horse	4	1	0	131	36	44	12	16	38,0	38,2
25	2	Shetland Pony	4	1	0	19	48	52	16	20	37,2	38,3
26	2	Shetland Pony	4	1	0	259	44	48	12	16	37,8	37,9
27	3	WB	1	1	183	106	36	32	12	12	37,2	38,4
28	4	WB	4	1	0	17	32	32	8	12	37,5	38,0
29	13	Kaltblut	4	1	3	9	44	52	12	24	37,1	38,8
30	4	Noriker	4	2	0	4	36	40	12	12	37,2	37,3
31	7	WB	4	1	0	424	48	44	24	16	37,3	38,4
32	1	Isländer	4	1	0	170	40	44	20	28	38,2	38,5
33	3	Pinto	4	1	0	113	52	48	24	28	n.m.	n.m
34	3	Pinto	4	1	0	23	48	36	24	16	n.m.	n.m
35	4	Isländer	4	1	0	33	36	40	12	12	37,1	37,4
36	2	Minishetland-Pony	4	1	0	719	44	40	12	8	38,0	37,9
37	2	WB	1	1	77	229	36	32	8	12	37,9	37,6
38	5	Percheron	4	1	0	104	48	52	16	16	n.m.	n.m
39	5	WB	4	1	1	>80 0	36	40	12	8	37,7	37,6
40	2	Isländer	4	1	0	>80 0	44	48	12	16	37,5	38,0
41	1	Isländer	4	1	0	256	36	32	8	8	37,2	36,9
42	1	Pinto	4	1	0	15	44	44	12	16	38,0	38,2
43	4	WB	4	1	0	>80 0	36	32	12	12	37,2	37,1
44	1	WB	4	1	1	200	52	48	16	12	38,2	37,9
45	2	Noriker	4	1	0	191	32	36	8	8	37,3	36,9

46	2	WB	4	1	0	13	36	44	12	12	36,8	37,5
47	2	WB	4	1	0	751	36	36	12	16	37,6	37,7
48	3	Pinto	4	4	0	1	32	28	12	12	37,2	38,2

X. DANKSAGUNG

Diese Arbeit wäre nicht zustande gekommen, wenn mich nicht viele Menschen auf meinem Weg zur Promotion begleitet und unterstützt hätten. Zuallererst möchte ich mich bei **Univ.-Prof. Dr. Lutz S. Göhring** für die engagierte Betreuung der Studie bedanken. Einen ganz besonderen und herzlichen Dank auch an meine Betreuerin **Dr. Tanja Witte**, auf deren großartige Unterstützung und umfangreiches Fachwissen ich immer zählen konnte.

Für das Bereitstellen der Schnellmessgeräte EquiChekTM – SAA und die Durchführung der Analyseverfahren danke ich **Kieran Walshe**.

Darüber hinaus danke ich **Dr. Stefan R. von Bieberstein** und **Dr. Anke von Bieberstein** für die tatkräftige Unterstützung bei der Entnahme und Verarbeitung der Proben.

Für die Korrekturarbeiten an dieser Arbeit und herzliche Unterstützung in dieser Zeit danke ich ganz besonders **Dr. Constanze Schreiner** und **Ingeborg Horn**.

Weiter danke ich meinen Kollegen in der Pferdeklinik Bieberstein, die mich bei der Durchführung der Studie so großartig unterstützt haben.

Ein ganz besonderer Dank geht an meine lieben Eltern **Anita** und **Josef Retzer**, ohne deren bedingungslose Rückendeckung diese Doktorarbeit nicht möglich gewesen wäre.